

UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DIE WIRKUNG VON
SILBERPRÄPARATEN AUF VIREN
IN TRINKWASSER

Maren Schmidt

*Liss.
München
85*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie,
Infektions- und Seuchenmedizin
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. mult. A. Mayr

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:
Prof. Dr. H. Mahnel

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE WIRKUNG VON

SILBERPRÄPARATEN

AUF VIREN IN TRINKWASSER

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Maren Schmidt
aus
Essen

München 1985

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl

Referent: Prof. Dr. H. Mahnel

Korreferent: Prof. Dr. Dr. habil. W. Ahne

Tag der Promotion: 22. Februar 1985

Gewidmet meiner Familie

und Jörg

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. SCHRIFTTUM	2
2.1. Viren und ihre wesentlichen Merkmale der Stabilität	2
2.2. Silber	3
2.2.1. Chemie des Silbers	3
2.2.2. Wirkungsmechanismus des Silbers auf Mikroorganismen	4
2.2.3. Beeinflussung der Silberwirkung	7
2.2.4. Anwendung der antimikrobiellen Silberwirkung - geschichtlicher Überblick	10
2.2.5. Silberwirkung auf Bakterien, Pilze und Algen	11
2.2.6. Ergebnisse aus Versuchen mit Silber an Viren	12
2.2.7. Anwendungsgebiete und Verfahren der Desin- fektion mit Silber	13
2.2.8. Gesundheitliche Risiken durch Silber	16
2.3. Die Wirkung von Chlor auf Mikroorganismen	17
2.4. Die Wirkung von Wasserstoffperoxid auf Mikroorganismen	19
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	20
3.1. Material und Methoden	20
3.1.1. Zellkulturen	20
3.1.2. Virusarten und Nachweissysteme	21
3.1.3. Virus-Stammsuspensionen	22
3.1.4. Qualitativer und quantitativer Virusnachweis	23
3.1.5. Silberpräparate	24
3.1.6. Wasser und Versuchsgefäße	26
3.1.7. Versuchsanordnung	26
3.2. Versuche und Ergebnisse	28
3.2.1. Stabilität der Viren im Wasser bei Raumtemperatur	28
3.2.2. Stabilität einiger Virusarten in Wasser von 10°C	30

	Seite
3.2.3. Einfluß der Silberpräparate <i>Micropur</i> und <i>Certisil</i> auf Viren im Wasser	32
- Newcastle Disease-Virus	32
- Vaccinia-Virus	38
- Pseudowut (Aujeszky)-Virus	43
- Influenza-Virus	45
- ECBO-Virus	49
3.2.4. Effekte der Silber-Kombinationspräparate <i>Certisil combina</i> und <i>Sa-</i> <i>nosil</i> auf Viren im Wasser	51
- Newcastle Disease-Virus	51
- ECBO-Virus	54
- Vaccinia-Virus	56
- Pseudowut (Aujeszky)-Virus	58
4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	60
5. ZUSAMMENFASSUNG	66
6. LITERATURVERZEICHNIS	70

1. EINLEITUNG

Eines unserer wichtigsten Lebensmittel, das Trinkwasser, ist mit zunehmender Umweltbelastung auch in seiner hygienischen Qualität ständiger Bedrohung ausgesetzt. Selbst primär mikrobiologisch einwandfreies Grund- oder Oberflächenwasser kann genöbuntuaglich werden, wenn es in Reservoirren und Vorrattanks mit menschlichen, tierischen oder Umweltkeimen sekundär verunreinigt wird. Neben bakteriellen Wasserkontaminanten sind es auch Viren, denen seit einigen Jahren bei der Trinkwasserkontrolle eine ernsthafte Aufmerksamkeit geschenkt wird.

Allerdings können sich Viren im Unterschied zu Bakterien und anderen Mikroben mit Zellstruktur im Wasser nicht selbstständig vermehren. Auch wenn sie in größeren Mengen ins Trinkwasser gelangen, werden sie darin extrem stark verdünnt und verhalten sich in diesem Milieu zudem mehr oder weniger stark instabil. Zumindest bestimmten humanpathogenen Viren kommt jedoch als Wasserkontaminanten auch in sehr geringer Menge eine epidemiologische Bedeutung zu.

Zur hygienischen Wasserkonservierung wurden neben den rasch, aber nur kurzzeitig wirksamen Halogenverbindungen und Oxidantien gern Silbersalze bzw. Silberionen als Trinkwasserzusätze verwendet, weil sie eine anhaltende antimikrobielle Wirkung haben und als unbedenklich gelten. Diese Eigenschaft des Silbers ist seit dem Altertum bekannt, wurde aber erst ab Ende des letzten Jahrhunderts wissenschaftlich untermauert. Die bakterioastatische bis bakterizide Wirkung des Silbers ist inzwischen erwiesen. Keine Erkenntnisse mit Aussagekraft ließen sich jedoch aus den wenigen bisher durchgeführten Untersuchungen über eine antivirale Wirksamkeit von Silberpräparaten gewinnen, die sich als keimhemmende Wasserzusätze bereits vielerorts bewährt haben.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es zu untersuchen, inwieweit solche Silberpräparate in Trinkwasser suspendierte Viren unterschiedlicher Struktur und Wasserstabilität anzugreifen und zu inaktivieren vermögen.

2. SCHRIFTTUM

2.1. Viren und ihre wesentlichen Merkmale der Stabilität

Nach ihrem Aufbau unterscheidet man unbehüllte (nackte) Viren, die nur aus dem Nukleokapsid bestehen, und behüllte, die zusätzlich eine lipidhaltige Hülle besitzen. Dieser morphologische Unterschied ist für die Umweltstabilität wesentlich. Die für die Infektiosität essentielle äußere Hülle oder Membran behüllter Viren ist gegen die meisten physikalischen und chemischen Umwelteinflüsse viel empfindlicher als das außen begrenzende Proteinkapsid nackter Viren. Die Art des Genoms, ob DNS oder RNS, spielt dem gegenüber eine untergeordnete Rolle. Neben bis zu 20 verschiedenen Polypeptiden, die das Viruskapsid bilden, und Lipiden, die ausschließlich Bestandteile von Hüllen sind, enthalten Viren in Hülle, Kapsid und vielfach auch im Innenkörper Glykoproteide mit Enzymcharakter und Enzyme. Sie spielen alle eine essentielle Rolle für die Infektiosität jedes Virus (MAHNEL, 1983; ROLLE und MAYR, 1984).

Die Vermehrung der Viren ist nur in lebenden, für die jeweilige Virusart empfänglichen Zellen möglich. Die Infektion einer permissiven Zelle mit anschließender Virusreproduktion findet unter natürlichen Bedingungen nur dann statt, wenn alle Strukturelemente eines infizierenden Virus unversehrt erhalten sind. Dies gilt insbesondere für die äußeren, für die Zelladsorption und Penetration maßgeblichen Virusaktivitäten (HORZINEK, 1975; MAHNEL, 1983; ROLLE und MAYR, 1984).

Die Inaktivierung oder Desinfektion eines Virus ist bereits gegeben, wenn nur bestimmte, für die Zellinfektion oder intrazelluläre Vermehrung notwendige Bestandteile geschädigt werden. REBER (1972) definierte Desinfektion als gezielte Entkeimung mit dem Zweck, eine Übertragung bestimmter unerwünschter Mikroorganismen in vermehrungsfähigem Zustand durch Eingriffe in deren Struktur oder Stoffwechsel unabhängig von ihrem Funktionszustand zu verhindern. Die Ausschaltung der Vermehrungsfähigkeit der Viren und somit ihrer Infektiosität durch Eingriffe in die Struktur ihrer einzelnen Bestandteile ist das Ziel der Virusdesinfektion (MAHNEL, 1983).

In Abhängigkeit von ihrer Struktur läßt sich die Widerstandsfähigkeit der Viren speziell gegenüber Inaktivierungs- und Desinfektionsmaßnahmen grob unterteilen. Zahlreiche Untersuchungen führten zu der Erkenntnis, daß kleine unbehüllte Viren im allgemeinen widerstandsfähiger sind als größere behüllte Viren, die empfindliche, für die Infektiosität essentielle äußere Hüllen besitzen. Virusgruppen verschiedener Morphologie, sogar Virusarten gleicher Familien, können sich jedoch auch sehr unterschiedlich bezüglich verschiedener inaktivierender und desinfizierender Einflüsse verhalten.

Neben ihrer Struktur ist ferner der Zustand, in welchem die Viren vorliegen, von Bedeutung. So verhalten sich sonst recht widerstandsfähige Viren vergleichsweise labil, wenn sie zum Beispiel in Wasser zellfrei suspendiert sind (MAHNEL, 1983; ROLLE und MAYR, 1984).

2.2. Silber

2.2.1. Chemie des Silbers

Das einwertige Silber (Ag) zählt zu den stabilsten Edelmetallen und wird nur von atomarem Sauerstoff (O) und Ozon (O₃) unter der Bildung von unlöslichem Silberoxyd (Ag₂O) sowie von Schwefelwasserstoff (H₂S) mit der Reaktion zu Silbersulfid (Ag₂S) angegriffen. Es kann ausschließlich in konzentrierter Salpetersäure (HNO₃) in Form von Silbernitrat (AgNO₃, Höllenstein) gelöst werden. Dieses Salz, farblos und gut wasserlöslich, stellt eine der wichtigsten Silberverbindungen dar. Die mit Ausnahme des Silberfluorids (AgF) nur schwer wasserlöslichen Silbersalze der Halogene lassen sich in einer Natriumthiosulfatlösung (Na₂S₂O₃) gut lösen.

Eine besondere Eigenschaft des Silbers ist die leichte Bildung von Komplexsalzen. So reagiert es mit Ammoniak (NH₃) zum Diaminsilberion ($(\text{Ag}(\text{NH}_3)_2)^+$), einem positiven, einwertigen Komplexion. Von den hiermit entstehenden Verbindungen sind das Diaminsilberchlorid ($(\text{Ag}(\text{NH}_3)_2)\text{Cl}$) und das Diaminsilbernitrat ($(\text{Ag}(\text{NH}_3)_2)\text{NO}_3$) gut wasserlöslich. Eine weitere Eigenschaft des Diaminsilbernitrats ist die sogenannte "Silberspiegelreaktion". Durch ein Reduktionsmittel wird dieses Silbersalz leicht zu metallischem Silber reduziert ($\text{Ag}^+ \rightarrow \text{Ag}$), das entweder als graues Silberpulver ausfällt oder

sich an einer Glaswand als glänzender Silberspiegel niederschlägt (CHRISTEN, 1974; WACHTER und HAUSEN, 1977).

2.2.2. Wirkungsmechanismus des Silbers auf Mikroorganismen

Der schweizer Botaniker v. NÄGELI prägte als erster 1893 den Begriff der Oligodynamie. Er beschrieb hiermit einen Effekt, den er bei Versuchen mit schwach konzentrierten Silbersalzlösungen und Süßwasser-algen beobachtete (SCHWOTZER, 1972).

Durch zahlreiche Untersuchungen kam man zu der Erkenntnis, daß unter dem Begriff der Oligodynamie die Wirksamkeit kleinster Mengen von Metallionen auf Mikroorganismen zu verstehen ist und es sich hierbei um einen chemischen Vorgang handelt (oligos = wenig; oligodynamisch = wenig könnend (wörtlich), auch in Spuren wirksam (sinngemäß)) (ZIMMERMANN, 1952 b; OBERZILL, 1956). SÜPFLE (1922) stellte fest, daß die Oligodynamie der Metalle nur dann auftritt, wenn diese gelöst sind. Die Hypothese von SÜPFLE (1922), MESSERSCHMIDT (1916) und vielen anderen, daß es sich dabei um einen chemischen Effekt handelt, wurde 1930 mit der Ionentheorie von LEITNER bewiesen. Er beobachtete, daß ionisiertes, positiv geladenes Silber an die negativ geladene Oberfläche von *Escherichia coli* - Bakterien adsorbiert wird und der dabei entstehende Bakterien - Silber - Komplex elektrisch neutral ist. Mit elektrometrischen Messungen konnte er gleichzeitig feststellen, daß die Silberionenkonzentration in der Lösung abnimmt, wenn deren Nachschub unterbleibt.

Die 1917 (b) von SAXL geäußerte Strahlentheorie, bei der es neben dem chemischen Effekt auch zu einer physikalischen Fernwirkung der Metalle kommen soll, wurde Anfang der 20er Jahre eindeutig widerlegt.

HERZBERG (1923) hatte die Vorstellung, daß Silberionen in der Lage seien, in ihrer unmittelbaren Umgebung atomaren Sauerstoff zu verdichten und damit entweder eine direkte Oxidation oder eine Dehydratation der Bakterienzelle zu verursachen. Diese Theorie, bei der Silber als Katalysator fungieren sollte, wurde von SÜPFLE (1929) mit Versuchen unter anaeroben Verhältnissen eindeutig widerlegt. Er stellte vielmehr fest, daß Sauerstoff die Ionisation des Silbers fördert und nur dann notwendig sei, wenn das Silber als reines Metall oder in kolloidaler Verbindung vorliegt.

Weitere Untersuchungen über die Adsorption des Silbers an die Bakterienoberfläche führten zu wesentlichen Erkenntnissen. LIESE und MENDEL (1923) konnten eine Abhängigkeit der adsorbierten Silbermenge von der Größe der Bakterienoberfläche und deren Ladungsgröße und ferner auch vom pH-Wert und Salzgehalt der Lösung nachweisen. VIGNATI und SCHNABEL (1928) machten die Beobachtung, daß diese Adsorption reversibel ist, nachdem auch LEITNER (1930) schon die Verdrängbarkeit des adsorbierten Silbers durch andere Stoffe beschrieben hatte. Neben dieser reversiblen Adsorption der verschiedenen Metalle (KRUSE und FISCHER, 1935; IKEDA, 1936) an die Bakterienoberfläche, die einer bakteriostatischen Wirkung gleichkommt, fand HOFFMANN (1938) auch eine irreversible Schädigung bei den verschiedensten Bakterienarten. Außer einer sicheren Keimabtötung wies er nach, daß Sporen nur so lange am Auskeimen gehindert wurden, als genügend viele Silberionen vorhanden waren. Er beschrieb eine Abhängigkeit der Silberwirkung vom Verhältnis zwischen Keimzahl und Silbermenge, sowie von der Keimzahl und der Einwirkungszeit. Später fanden WORATZ und THOFERN (1955), daß die bakterizide Silberwirkung ca. 15 Minuten nach dem Silberzusatz eintritt und die bis dahin reversible Wirkung nicht mehr rückgängig gemacht werden kann.

Sichtbare Veränderungen an Bakterien, hervorgerufen durch eine Silberbehandlung, waren lange Zeit unbekannt. Im Gegensatz zu den Beobachtungen an Algen (v. NÄGELI, 1893), bei denen es abhängig von der Silberdosis zu verschiedenen Veränderungen an den Chlorophyllbändern kommt, konnte BRINGMANN (1953) keine Veränderung der Morphologie bei *Escherichia coli*-Bakterien durch Silber nachweisen, wohl jedoch durch Kupfer. 1981 beschrieb RICHARDS bei *Pseudomonas aeruginosa* deutliche morphologische Abnormitäten nach einer Silberbehandlung in Bezug auf Größe und Zellstruktur bei verschiedenen Silberkonzentrationen. Bei niedrigen Konzentrationen von Silbernitrat (3µg/ml) stellte er zudem eine Beeinträchtigung des Teilungsvorganges fest.

Der eigentliche, direkte Wirkungsmechanismus des Silbers, der zu einer irreversiblen Schädigung von Mikroorganismen führt, konnte lange Zeit nicht geklärt werden. WEICHINGER (1923) vermutete als erster hinter der Silberwirkung eine Fermenthemmung. BREKENFELD (1938) sowie GUSSO und CIKONI (1942) glaubten nach Bakterienversuchen, daß das Silber

katalytisch in deren Fermentsystem eingreift.

Einen der wichtigsten Beiträge zur Klärung dieser Frage lieferten WO-RATZ und THOFERN (1955), aufbauend auf vorangegangenen Untersuchungen von v.EULER und SVANBERG (1920), besonders aber von SUMNER und SOMERS (1953). Sie beschrieben die hemmende Wirkung des Silberions durch Blockierung von Sulfhydryl- (SH) und Carboxylgruppen (COOH) an isolierten Warmblüter- und Pflanzenfermenten. Sie führten Versuche mit ruhenden, von allen Nährbodenbestandteilen befreiten Darmbakterien (resting cells) durch, die in diesem Zustand vorwiegend einen Dissimilationsstoffwechsel bestreiten. Nach der Zugabe spezifischer Substrate und dem Zusatz unterschiedlich konzentrierter Silbernitratlösungen konnte nachgewiesen werden, daß das jeweilige Enzym oder Enzymsystem gehemmt wird.

Da zwischen tierischen und pflanzlichen Enzymen einerseits und bakteriellen Enzymen andererseits keine grundlegenden Strukturunterschiede bestehen, konnten die Erkenntnisse von SUMNER und SOMERS (1953) auf Bakterienenzyme übertragen werden. Die Bindungsmöglichkeiten für Silberionen am Enzym unter Berücksichtigung seiner Struktur (Apoenzym = Proteinkörper, Coenzym = prosthetische Gruppe; BUDDECKE, 1977) erstrecken sich beim Apoenzym besonders auf die negativen Carboxylgruppen, beim Coenzym auf die mitunter vorhandenen negativ geladenen Sulfhydrylgruppen (EGGENSPERGER, 1973). Durch diese Reaktion kommt es zwangsläufig zur Funktionsblockierung lebenswichtiger Enzyme des Kohlehydrat- und des Proteinstoffwechsels, wobei die Schädigung eines einzelnen Enzyms zum Ausfall ganzer Enzymketten führen kann. Besonders die Funktion der Gärungs- und Atmungsketten im Energiestoffwechsel, von aktiven Sulfhydrylgruppen abhängig, ist Voraussetzung für den Assimilationsstoffwechsel, der die Grundlage von Wachstum und Vermehrung darstellt.

Sind nur sehr geringe Silbermengen zur völligen Enzymhemmung nötig, so liegt der Verdacht nahe, daß bei diesen Enzymen lediglich die prosthetische Gruppe blockiert wird, wobei es sich nicht in allen Fällen um SH-Gruppen als Bindungsort handeln muß. Werden hingegen sehr viel höhere Silberkonzentrationen benötigt, um z.B. die Hemmung der Katalase zu verursachen, wird wahrscheinlich das Apoenzym in Form einer Denaturierung geschädigt.

Neben der oligodynamischen Wirkung des Silbers wird von verschiedenen

Autoren auch eine toxische Silberwirkung beschrieben, die bei höher konzentrierten Silberlösungen auftritt (v. NÄGELI, 1893; HERZBERG, 1923; WORATZ und THOFERN, 1955).

Literaturübersicht bei BRAUNE et al., 1957 und HORN et al., 1972.

2.2.3. Beeinflussung der Silberwirkung

Das Prinzip der Silberwirkung macht deutlich, daß neben dem chemischen Verhalten des Silbers zwei Faktoren besonderer Beachtung bedürfen. Eine ausreichende Ionisation des Schwermetalls (LEITNER, 1930), sowie eine genügend große Anzahl von Silberionen in der Lösung sind Voraussetzung für die Entfaltung einer optimalen Desinfektionswirkung. Gerade sich hier negativ auswirkende Einflüsse chemisch-physikalischer Art oder von Seiten der Mikroorganismen können zu einer erheblichen Beeinträchtigung der oligodynamischen Wirkung führen.

Zunächst ist die Art, in welcher das Silber vorliegt, von entscheidender Bedeutung, da nur zur Dissoziation befähigtes Silber ionisiert (GOTTSCHALK, 1931). Neben der Reinheit des Metalls ist bei manchen Desinfektionsverfahren mit Silber auch die Beschaffenheit der Metalloberfläche bedeutsam. Zusätzlich beeinflussen schwankende Wasserstoffionenkonzentrationen (LEITNER, 1929 und 1930; LIESE und MENDEL, 1923), Kohlensäure- und Sauerstoffgehalt der Lösung die Ionisation (SÜPFLE, 1929; NEISSER und EICHBAUM, 1932; HOFFMANN, 1938).

Unter den physikalischen Einflüssen ist besonders die Temperatur hervorzuheben. Einerseits erfährt bei steigender Temperatur die Ionisation eine Förderung (KONRICH, 1929), andererseits ist bekannt, daß Gifte bei höheren Temperaturen intensiver auf Mikroorganismen einwirken als bei niedrigen. WALLHÄUSSER und SCHMIDT (1967) stellten bei Oligodynamieversuchen mit *Escherichia coli*-Bakterien fest, daß diese durch eine Silberkonzentration von 5 ppm bei 22° C in 4 Stunden, bei 0° C dagegen erst nach 24 Stunden abgetötet werden.

Zu einer starken Reduktion der Ionenmenge in der Lösung führt die Adsorption an Oberflächen der verschiedensten Partikel, weshalb dem Einsatz von Silber zur Desinfektion von stark verschmutzten Wässern Grenzen gesetzt sind, bzw. eine erhebliche Erhöhung der Silberdosis erforderlich wird (KRUSE und FISCHER, 1936). Bis zu 90 % der wirksamen

Silberionen können auf diese Weise adsorptiv gebunden werden (SCHWOTZER, 1972). Auch an den Behälterinnenseiten wird Silber gebunden, das bei einem Wasserwechsel bis zu einem Gleichgewicht wieder in die Lösung abgegeben wird (OBERZILL, 1956). Um diese charakteristische "Aktivierung" besonders von Glasgefäßen zu beseitigen, werden sie nach Kontakt mit Silber mit einer Natriumthiosulfatlösung behandelt.

Zahlreiche im wässrigen Medium vorhandene Elektrolyte können zum einen die Ionisation des Silbers negativ beeinflussen, z.B. Chloride (LEITNER, 1930; NEISSER und EICHBAUM, 1932), zum anderen durch die Bildung von Silberverbindungen mit einem niedrigen Löslichkeitsprodukt, z.B. Silbersulfid, bereits ionisiertes Silber unwirksam machen. Ferner ist damit zu rechnen, daß sämtliche Verbindungen mit SH-Gruppen der Lösung wirksame Silberionen entziehen. Gleiches gilt für Thioglycolat (RENN, 1952) und auch Lysozym (RICHARDS, 1981). Ebenfalls muß bedacht werden, daß an Bakterienoberflächen bereits adsorbiertes Silber durch andere Stoffe verdrängbar ist (LEITNER, 1930). Auch die starke Neigung des Silbers zur Komplexbildung mit organischen Substanzen wie z.B. Pepton, Eiweiß oder Cystein beeinträchtigt den Desinfektionserfolg (WALLHÄUSSER und SCHMIDT, 1967; SCHWOTZER, 1972).

Die Bedeutung der Einwirkungszeit, auf die HOFFMANN (1938) sowie WORATZ und THOFERN (1955) hinweisen, erklärt sich aus dem Wirkungsprinzip des Silbers. Die zunächst reversible, bakteriostatische Wirkung geht erst nach einem gewissen Zeitraum in die irreversible, bakterizide Wirkung über.

Die Einflüsse von Seiten der Keime können sich nicht minder schwerwiegend auf das Desinfektionsergebnis auswirken (WALLHÄUSSER und SCHMIDT, 1967). Ein ungünstiges Verhältnis zwischen der Keimzahl und der Silbermenge unter besonderer Berücksichtigung der Oberflächen- und Ladungsgröße der Mikroorganismen (LIESE und MENDEL, 1923) kann eine ausreichend hemmende oder abtötende Wirkung verhindern (HERZBERG, 1923; LEITNER, 1929; HOFFMANN, 1938; BRAUNE et al., 1957).

Inwieweit Stoffwechselprodukte von Mikroben die Silberionisation fördern können ist nicht hinreichend geklärt (SCHWOTZER, 1972). Auf die Bedeutung der von einigen Bakterienarten synthetisierten Cystein-

desulfurase weisen WORATZ und THOFERN (1955) hin. Bereits bekannte zahnärztliche Beobachtungen, wie sehr die oligodynamische Wirkung des Silbers in der Mundhöhle durch Silbersulfidbildung gemindert wird, lassen den Schluß zu, daß ähnliche Verhältnisse überall dort auftreten, wo organische Schwefelverbindungen enthaltende Bakterien mit Silber in Berührung kommen. Die Cysteindesulfurase baut die Aminosäure Cystein unter der Bildung von Brenztraubensäure, Ammoniak und Schwefelwasserstoff ab, wodurch der Ausgangsstoff zur Bildung des unlöslichen Silbersulfids bereitgestellt wird.

Nicht zuletzt kommt es auch auf die Struktur der zu inaktivierenden Enzyme und somit auf die Art der zu erwartenden Keimflora an. So erfordert z.B. die komplette Hemmung der Katalaseaktivität eine 200.000 fach höhere AgNO_3 -Dosis als es zur Inaktivierung anderer Enzyme notwendig ist. Aus diesem und aus den zuvor genannten Gründen sollte man immer mit einem Überschuß silbern, um auch bei schwankenden Verhältnissen in der Praxis eine ausreichende Desinfektionswirkung zu erzielen (BRAUNE, 1957).

Ein großes Problem in Bezug auf den Desinfektionserfolg stellt die Resistenzbildung von Mikroorganismen gegen Silber dar. Von ZIMMERMANN (1952 b) und BRAUNE et al. (1957) konnte eine Gewöhnung von Wasserkeimen an Silber beobachtet werden. HOFFMANN (1938) stellte fest, daß frisch isolierte Bakterienstämme sich resistenter gegenüber Silber verhalten als alte Laborstämme. Bei Viren konnten diesbezüglich keine Unterschiede nachgewiesen werden (LIPPELT, 1957).

Zu beachten ist weiterhin, daß das Silber verschiedene dosisabhängige Wirkungen zeigt. Ab bestimmten Silberkonzentrationen stellten HERZBERG (1923) und OETTEL (1935) ein Reizwachstum bei Bakterien fest. Auch der von der Dosis abhängige Unterschied zwischen einer oligodynamischen Wirkung und einer Wirkung im Sinne einer Schwermetallvergiftung wurde von zahlreichen Autoren bei Algen (v. NÄGELI, 1893) und bei Bakterien (HERZBERG, 1923; WORATZ und THOFERN, 1955) beschrieben.

Literaturübersicht bei BRAUNE et al. (1957) und HORN et al. (1972).

2.2.4. Anwendung der antimikrobiellen Silberwirkung - geschichtlicher Überblick

Überlieferungen aus dem Altertum zeigen, daß die antimikrobielle Wirkung des Silbers neben der Wirkung anderer Schwermetalle wie z.B. Kupfer damals wahrscheinlich bekannt war und auch genutzt wurde. Dem Perserkönig Cyrus dienten auf seinen Kriegszügen Silberkrüge zum Wassertransport. Auch im Sanskrit wird erwähnt, wie Wasser in kupfernen Kesseln vorrätig gehalten wurde (OBERZILL, 1956). Die alten Ägypter deckten Wunden mit Silberfolien ab (ZIMMERMANN, 1952 b). Frühzeitig fanden auch andere Schwermetalle Eingang in die Medizin. In Rom fanden auf Empfehlung von Celsus (40 n. Chr.) Pflaster und Salben mit metallhaltigen Zubereitungen, die Silberglätte, Grünspan oder Kupferschlag enthielten, Anwendung in der Wundbehandlung (MÜLLER, 1950).

Im Laufe der Zeit gerieten die vielfältigen Erfahrungen auf diesem Gebiet wieder in Vergessenheit, und erst gegen Ende des letzten Jahrhunderts begannen zwei Wissenschaftler annähernd gleichzeitig die Wirkung von Schwermetallen auf Mikroorganismen zu erforschen. Im Jahre 1880 führte v. Nägeli, ein schweizer Botaniker, erstmals Versuche mit Süßwasseralgen der Gattung *Spirogyra* durch, die er verschiedenen konzentrierten Metallsalzlösungen aussetzte. Je nach der Silberkonzentration beobachtete er verschiedene Absterbemerkmale. In seinen Veröffentlichungen führte er 1893 den Begriff der Oligodynamie ein (v.NÄGELI, 1893). Bereits kurze Zeit nach diesen ersten Untersuchungen beschrieb CREDE (1884) die Anwendung von Silber in Form einer 2 %igen AgNO_3 -Lösung zur Prophylaxe der Augenentzündung durch *Neisseria gonorrhoeae* bei Neugeborenen. Bis zur Jahrhundertwende machten sich besonders BEHRING (1887, 1890), MILLER (1890) und CREDE (1896) um das Wissen über Silber verdient.

Zahlreiche Arbeiten schlossen sich ihren Entdeckungen an, in denen man den Wirkungsmechanismus des Silbers zu klären und dessen Wirkungsspektrum zu erfassen suchte.

Die Silberwirkung auf Viren hat man bisher nur unzureichend untersucht, obwohl die Desinfektion mit Silber zahlreiche Anwendungsgebiete gefunden hat.

(Literaturübersicht bei SCHWOTZER, 1972)

2.2.5. Silberwirkung auf Bakterien, Pilze und Algen

Aus zahlreichen Untersuchungen geht hervor, daß sich verschiedene Bakterienarten zum Teil recht unterschiedlich gegenüber der oligodynamischen Silberwirkung verhalten (BRAUNE et al., 1957; SCHWOTZER, 1972). Bereits 1928 konnten VIGNATI und SCHNABEL eine größere Empfindlichkeit bei gramnegativen als bei grampositiven Bakterien beobachten. ZIMMERMANN (1952 a) vermutete, daß der unterschiedliche Lipoidgehalt der Bakterien für die unterschiedliche Resistenz gegenüber Silber verantwortlich ist. Ferner sind morphologische Eigenschaften wie z.B. Schleimkapseln oder Wachshüllen von Bedeutung. Die bisher untersuchten Bakterienarten lassen sich in ihrer Widerstandsfähigkeit gegenüber Silber etwa wie folgt ordnen:

geringe Resistenz	mäßige Resistenz	hohe Resistenz
Enterobacteriaceae	sporenbildende	Mycobacteriaceae
Vibrionaceae	Bakterien	
Corynebakterien	säurefeste	
farbstoffbildende	Bakterien	
Bakterien	ubiquitäre Wasser-	
versch. Staphylokokken	keime	
u. Streptokokken		

Von den Pilzen weisen die Hefen eine mäßige Widerstandsfähigkeit auf, während Schimmelpilze besonders resistent sind. Eine Beeinflussung anderer Pilzarten ist anscheinend nicht möglich (NEISSER und EICHBAUM, 1932; KRUSE und FISCHER, 1935).

Bei Süßwasseralgen der Gattung Spirogyra konnte v. NÄGELI (1893) eine Empfindlichkeit gegenüber Silber feststellen.

2.2.6. Ergebnisse aus Versuchen mit Silber an Viren

Der Erreger der klassischen Geflügelpest, ein Orthomyxovirus, wurde als erstes Virus zu Oligodynamie-Versuchen herangezogen. SCHWEIZER (1922) setzte seine Empfindlichkeit gegenüber Silber der vegetativer Bakterien gleich. Später berichteten SCHEBOLDSJEWÄ und SCHUBLADSE (1936) über Versuche mit Viren und Silber. Aus heutiger Sicht lassen sich diese ersten Untersuchungen wegen unzulänglicher virologischer Methodik jedoch nicht verwerten.

LIPPELT (1957) überprüfte die Silberwirkung bei folgenden, ihm als Laboratoriumsstämme zur Verfügung stehenden Viren: Influenza-Virus Typ A 1, Influenza-Virus Typ B (mehrere Stämme) und Mumps-Virus. Abhängig von der Silberkonzentration und der Einwirkungszeit stellte LIPPELT einen Verlust der hämagglutinierenden Eigenschaft der Viren fest, was er einer Inaktivierung gleichsetzte. Die Virusstämme verhielten sich in ihrer Empfindlichkeit gegenüber Silber zum Teil recht unterschiedlich. Bei einer Silbernitrat-Konzentration von 1 µg/ml wurde der Influenza B-Stamm nach 20 min., der Influenza A-Stamm nach 50 min. und der Mumps-Stamm erst nach 110 min. "inaktiviert". Diese Ergebnisse müssen jedoch mit einem gewissen Vorbehalt beurteilt werden, da LIPPELT die Virusinaktivierung anhand ihrer Fähigkeit zur Agglutination von Hühnererythrozyten überprüfte, die nicht mit der Infektiosität des Virus identisch ist.

GRIGOREVA (1967) untersuchte die Wirkung von Silber auf Coxsackie-Viren und Bakteriophagen sowie die Beeinflussung dieser Wirkung durch die Anwesenheit stäbchenförmiger Darmbakterien. Sie fand bei diesen Bakterien eine geringere Resistenz als bei den untersuchten Phagen und Viren. Weiterhin stellte sie fest, daß die Silberwirkung auf die Viren durch die gleichzeitige Anwesenheit dieser Darmkeime zusätzlich gemindert wurde.

Gegenstand japanischer Untersuchungen, Virus im Wasser durch Silber zu inaktivieren, war ein Mäusehepatitis-Virus (Corona-Virus). YAGO et al. (1978) beobachteten unter bestimmten Bedingungen an einer Virus-suspension einen Abfall der Infektiosität nach Kontakt mit silberbeschichteten Aktivkohlegranula.

Versuche von BRAUNE et al. (1957) ergaben übereinstimmend mit früheren

Ergebnissen (WOLLMANN und WOLLMANN, 1931; NEISSER und EICHBAUM, 1932; EBERT und SHAPIRO, 1936) ein besonderes Verhalten von Bakteriophagen gegenüber Silber. Nach einer vorübergehenden kurzfristigen Inaktivierung für circa zwei Stunden gewann der untersuchte Bakteriophagenstamm (adaptiert auf den Escherichia coli-Stamm Heim IV) ohne einen weiteren Eingriff seine volle Aktivität nach drei Stunden wieder zurück. BRAUNE bezeichnete die Silberwirkung gegenüber diesem Phagenstamm als gering. 1981 gelang es RICHARDS den Bakteriophagen T 2 mit einer Dosis von 1,5 µg/ml Silbernitrat zu inaktivieren. FOX und MODAK (1974) führen die Inaktivierung von Bakteriophagen auf eine Reaktion des Silbers mit der Phagen-DNS zurück, wobei es zu einer Kreuzvernetzung der DNS-Helix kommen soll. Veränderungen an Proteinstrukturen der Phagen können jedoch nicht ausgeschlossen werden.

2.2.7. Anwendungsgebiete und Verfahren der Desinfektion mit Silber

Der Schwerpunkt für die Anwendung des Silbers liegt im Bereich der Trinkwasserdesinfektion und -konservierung, wozu erstmals SAXL (1917 a u. b) und später RUETE (1925) anregten. Gegenüber dem zur Zeit am gebräuchlichsten Wasserdesinfektionsverfahren, der Chlorung, besitzt die Silberung einige Vor- und Nachteile. Im Gegensatz zum schnell wirkenden Chlor tritt die Silberwirkung erst nach einer gewissen Einwirkungszeit ein, die von verschiedenen Faktoren abhängig ist und somit den Einsatz von Vorratsbehältern notwendig macht (HÖLL, 1979; MÜLLER, 1974). Die technisch leicht durchführbare Trinkwassersilberung erfordert nur in geringem Maße eine fachmännische Wartung und ist zudem im Gegensatz zur Chlorung des Wassers unbedenklich. Eine gesundheitliche Gefährdung besteht auch bei höheren Silberkonzentrationen nicht, während Chlor in Form von Chlorgas zu akuten Vergiftungen mit Glottis- und Lungenödem und durch Atemstillstand zum Tode führen kann, zumindest aber schleimhautreizend wirkt (BÄR, 1970; FORTH et al., 1980). Eine geschmackliche Beeinträchtigung des Trinkwassers, wie man sie bei der Chlorung feststellen kann, tritt nach der Silberung nicht ein. Durch organisches Material gebundenes Chlor wird unwirksam im Gegensatz zum gebundenen Silber, dessen Wirkung teilweise erhalten bleibt. Ein Chlor-Überschuß, der nach der Keimabtötung zurückbleibt, geht verloren. Ein Silberüberschuß hingegen bleibt im Wasser wirksam, kann sich durch Adsorption

an Behälterinnenseiten sogar anreichern und verursacht eine Langzeitwirkung des Silbers. Dieser Umstand führt auch dann zu befriedigenden Ergebnissen, wenn bei der Aufbewahrung von Trinkwasser in Tanks und Zisternen einer Kontaminierung entgegen gewirkt werden und somit die Frischhaltung von primär einwandfreien Wässern gewährleistet werden soll (STELLMACHER et al., 1974).

Werden die Grenzen der Trinkwassersilberung in Bezug auf Wasserqualität, Anzahl der sporenbildenden Keime und Einwirkungszeit beachtet, so stellt sich vielerorts eine praxisgerechte Ergänzung, wenn nicht sogar eine Alternative zu bisher gebräuchlichen Verfahren dar, zumindest was die bakterielle Aufbereitung des Trinkwassers betrifft (BRAUNE et al., 1957).

Mit den bei der Trinkwassersilberung verfügbaren Verfahren lassen sich nicht nur größere Wassermengen in Wasserwerken und Schwimmbädern aufbereiten, auch zur Behandlung kleinerer Mengen sind sie geeignet (SCHWOTZER, 1972).

Die Verfahren lassen sich nach folgenden Prinzipien einteilen:

1.) Filteranlagen mit silberhaltigem Filtermaterial

z.B. Katadyn-Kontaktverfahren (KRAUSE, 1928)

Photonic-Verfahren (BRUNNER, 1950)

Sterilit-Verfahren (BRAUNE, 1953, 1954)

2.) Elektrolyse: durch Gleichstrom erzielte Abspaltung von Ionen aus Silberelektroden

z.B. Cumasina-Verfahren (KRUSE und FISCHER, 1936)

Elektro-Katadyn-Verfahren (GUTSCHMIDT, 1935; HOFFMANN, 1938)

3.) Silberpräparate in Form von Silberverbindungen oder kolloidalen Silberlösungen, die dem Wasser direkt zugesetzt werden

z.B. Silbernitratlösungen

Cumasina-Präparate (KRUSE und FISCHER, 1935)

Plasmadyn^R (SCHÖTTLER, 1947)

Micropur^R (HEY, 1947; BEGER, 1947)

Certisil^R

Auch Kombinationspräparate, die neben einer Silberkomponente einen zweiten mikrobiziden Wirkstoff enthalten, sind auf dem Markt

z.B. Certisil combina^R (Silberkomplexsalz mit Chlorkomponente)

Sanosil^R (Silberkomplexsalz mit Wasserstoffperoxid als Oxidans)

SCHWITZER (1983) berichtet über ausgezeichnete Ergebnisse bei der kontinuierlichen Wasserentkeimung der zahnärztlichen Behandlungseinheit, unter besonderer Berücksichtigung der wasserführenden Leitungen und dem Aspekt der Rekontaminierung bereits desinfizierten Wassers.

Ferner findet Silber als Konservierungsmittel nicht nur in der Getränkeindustrie Anwendung, wo es Mineralwässern und anderen Erzeugnissen zugesetzt wird; auch Lebensmittel, deren Rohstoffe und Zwischenprodukte können auf diese Weise konserviert werden. Und nicht zuletzt sind es eiweißhaltige Lösungen, sogar Seren, die mit Silber (Silberchlorid, Silberfluorid) zum Zweck der Konservierung behandelt werden (LAUSCH, 1938; BREKENFELD, 1938; SCHÖTTLER, 1947).

Angaben zur therapeutischen Verwendung des Silbers in Human-, Zahn- und Veterinärmedizin finden sich zahlreich in der Literatur (WALLHÄUSSER und SCHMIDT, 1967; FORTH et al., 1980). Höllenstein (AgNO_3) dient zum Ätzen bei überschießender Wundgranulation. Kolloidales Silber entfaltet seine adstringierende Wirkung als lokal anwendbares Desinfektionsmittel (Ekzeme, Dermatitis, Ulcus cruris); organische Silberverbindungen dienten früher zur Behandlung des Ulcus ventriculi et duodeni. Die Soor-Infektion der Vagina wird mit Silberpikratlösungen therapiert (WALLHÄUSSER und SCHMIDT, 1967). In der Gonorrhoeoprophylaxe Neugeborener wird eine 0,5 %ige AgNO_3 -Lösung in Form von Augentropfen verwendet (FORTH et al., 1980). Auch liegen Erfahrungen mit der Behandlung von Brandwundinfektionen vor (FOX et al., 1969; FOX u. MODAK, 1974; RICHARDS, 1981). In der Zahnmedizin ist nicht nur silberhaltiges Füllmaterial bekannt, die Desinfektion des Zahnwurzelkanals mit einer Silberverbindung ($\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$) wird ebenfalls beschrie-

ben (KATSUUMI, 1978). Ammoniakalisches Silbernitrat, Silberlaktat und Silbercitrat fanden ebenfalls Eingang in die Dentalpraxis (WALL-HÄUSSER und SCHMIDT, 1967).

In der Veterinärmedizin finden 0,1 bis 1,0 %ige Silbernitratlösungen in der Cystitisbehandlung (Blasenspülungen) und 2 %ige Silbernitratlösungen in der Therapie verschiedener Conjunctivitiden Anwendung (KRAFT und DÜRR, 1978; NIEMAND, 1980).

2.2.8. Gesundheitliche Risiken durch Silber

Mit der Nahrung aufgenommenes metallisches Silber ist für den Menschen ungiftig (LENDLE und WEIGMANN, 1953). Es wird zwar aus dem Darmtrakt resorbiert und in Form von Silbersulfid (Ag_2S) in verschiedenen Organen abgelagert, was man als generalisierte Argyrie (Argyrose) bezeichnet, ruft aber hierbei keine krankhaften Störungen hervor. Unter dem Einfluß des Lichtes färbt sich die Haut, in deren Corium Silbersulfid abgelagert ist, dunkel, allerdings ohne klinische Beschwerden zu verursachen. Eine lokale Argyrie ist am Auge nach Kontakt verletzter Hornhaut mit Silbernitrat zu beobachten (FORTH et al., 1980).

Die Gefahr der Entstehung einer Argyrie durch gesilbertes Trinkwasser kann nahezu ausgeschlossen werden, da nur äußerst geringe Mengen an metallischem Silber im Laufe größerer Zeiträume aufgenommen werden (HOFFMANN, 1938; LENDLE und WEIGMANN, 1953; BRAUNE et al., 1957). Wird gesilbertes Wasser zur Zubereitung der Nahrung benutzt, so geht das Silber oligodynamisch unwirksame Verbindungen ein oder fällt bereits beim Kochen des Wassers aus, so daß eine Argyrie nicht mehr entstehen kann (Braune et al., 1957). Lediglich beim Einsatz des Silbers im gewerbehygienischen oder therapeutischen Bereich könnte der Aspekt der Entstehung einer Argyrie von Bedeutung sein (LENDLE und WEIGMANN, 1953).

2.3. Die Wirkung von Chlor auf Mikroorganismen

Das zu den Halogenen zählende Chlor, das über eine außerordentliche chemische Reaktivität verfügt, findet in verschiedenen Verbindungen als Wasserdesinfiziens Anwendung (EGGENSPERGER, 1973). Sowohl freies wirksames Chlor (freies elementares Chlor (Cl_2), hypochlorige Säure (HOCl)), als auch gebunden wirksames Chlor (anorganische und organische Chloramine (Mono- und Dichloramin), chlorierte organische Aminoverbindungen) unterliegen jedoch einer starken Beeinflussung durch das Milieu (OTTIS, 1976; WALLHÄUSSER, 1978). Lediglich das stark wirksame Chlordioxid (ClO_2) verhält sich in wässriger Lösung recht stabil (MORRIS, 1971).

Freies wirksames Chlor ist sowohl durch das freie Halogen an sich als auch durch die unterchlorige Säure wirksam; beide Formen liegen in wässriger Lösung vor und befinden sich in einem pH-abhängigen Gleichgewicht:



Um die als solche bereits stark wirksame unterchlorige Säure zu stabilisieren, werden häufig Alkalien der Lösung zugesetzt:



Unter Abgabe von naszierendem (atomarem) Sauerstoff, der ebenfalls einen mikrobiziden Effekt besitzt, zerfällt die unterchlorige Säure langsam (STELLMACHER et al., 1974; WALLHÄUSSER, 1978; FORTH et al., 1980).

Die Bildung von Mono- und Dichloraminen, die in Anwesenheit von Ammoniak (NH_3) in drei Reaktionsschritten abläuft, ist temperatur- und vor allem stark pH-abhängig. Im alkalischen pH-Bereich findet verstärkt die Bildung von Monochloraminen (NHCl) statt (optimaler pH-Bereich: 8,3), während bei pH-Werten zwischen 5,0 bis 6,5 vorwiegend Dichloramine (NHCl_2) gebildet werden, die wesentlich stärker viruzid wirken (KELLY und SANDERSON, 1960). Um die gleiche Inaktivierungsrate wie mit freiem Chlor zu erzielen, muß gebunden wirksames Chlor höher konzentriert werden und längere Einwirkungszeiten müssen eingehalten werden (KELLY und SANDERSON, 1958; KRUSE et al., 1971).

Zellproteine, sowohl im strukturellen als auch im enzymatischen Be-

reich, stellen den Angriffspunkt für Chlor dar. Einerseits kommt es in wässrigen Lösungen zur Oxidation von Mercaptogruppen der Enzyme (zu Disulfiden) , wie auch zur Oxidation von Sulfhydrylgruppen anderer Proteine (MAHNEL, 1983). Andererseits geht Chlor direkte Reaktionen mit den Aminogruppen der Zellproteine zu N-Halogen-Verbindungen ein (EGGENSPERGER, 1973). Außerdem ist Chlor in der Lage mit Nukleinsäuren zu reagieren und sie somit zu schädigen (WALLHÄUSSER, 1978).

In entsprechenden Konzentrationen an verfügbarem Chlor wirkt es mit einem breiten Wirkungsspektrum mikrobizid. Eine gute Wirksamkeit kann gegenüber grampositiven Bakterien, sowohl vegetativen Formen als auch Sporen, wie auch gegenüber gramnegativen Bakterien beobachtet werden. Mycobakterien sowie Hefen und Schimmelpilze können mit mäßigem Erfolg inaktiviert werden (WALLHÄUSSER, 1978).

Neben unterschiedlicher Chlorempfindlichkeit der Virusarten (HORN et al., 1972; OTTIS, 1976; MAHNEL, 1977, 1983) sind auch zum Teil erhebliche Unterschiede zwischen den einzelnen Virusstämmen zu beobachten (KELLY und SANDERSON, 1958). Eine relativ hohe Resistenz zeigen nackte Viren, z.B. Entero- und Parvoviren (MAHNEL, 1983) und das Vaccinia-virus (Orthopoxvirus), während behüllte Viren leichter zu inaktivieren sind (OTTIS, 1976; MAHNEL, 1983). Eine Übersicht über die Widerstandsfähigkeit verschiedener Virusarten und -stämmen gegenüber Chlor unter verschiedenen Bedingungen ist bei OTTIS (1976) zu finden.

Die normale, laut Trinkwasser-Aufbereitungs-Verordnung zulässige Chlorkonzentration von höchstens 0,3 mg wirksamem Chlor pro Liter ist zur Virusinaktivierung sicher nicht ausreichend. HÖLL (1979) ist der Ansicht, daß höhere Dosierungen notwendig sind, und auch CARLSON (1976) gibt höhere Redoxpotentialwerte, bzw. längere Kontaktzeiten für die Virusinaktivierung als für die Desinfektion von Bakterien an. Die WHO (World Health Organisation) empfiehlt eine Dosierung von 0,5 mg wirksamem Chlor pro Liter bei einer Stunde Einwirkungszeit (HÖLL, 1979); in Ausnahmefällen läßt die Trinkwasser-Aufbereitungs-Verordnung kurzfristig eine Konzentration von 0,6 mg pro Liter Trinkwasser zu.

2.4. Die Wirkung von Wasserstoffperoxid auf Mikroorganismen

Wasserstoffperoxid (H_2O_2) gehört wie alle Peroxide zu den Oxidantien, einer Desinfektionsmittelgruppe, die über die Freisetzung von atomarem Sauerstoff wirkt (HORN et al., 1972; FORTH et al., 1980). Wie beim Chlor kommt es auch hier zur Oxidation von Sulfhydryl- und Mercaptogruppen, nur daß eine längere Einwirkungszeit als bei Halogenen für notwendig gehalten wird (EGGENSPERGER, 1973; MAHNEL; 1983).

Positiv ist zu bewerten, daß keine Desinfektionsmittel-Rückstände verbleiben, da Wasserstoffperoxid bei Kontakt mit organischem Material zu Wasser und Sauerstoff reagiert und deshalb auch auf dem Lebensmittelsektor (SCHLIESSER und STRAUCH, 1981) und im medizinischen Bereich (FORTH et al., 1980) eingesetzt wird.

Das in verdünnten Lösungen nicht sehr stabile Wasserstoffperoxid umfaßt mit seinem breiten Wirkungsspektrum sowohl Pilze als auch Bakterien (HÖLL; 1979); unbefriedigend ist seine Wirkung gegenüber Katalase-positiven Enterobakterien, da Wasserstoffperoxid durch Katalase inaktiviert wird.

Durch entsprechend hohe Konzentrationen von Wasserstoffperoxid lassen sich auch Viren inaktivieren (WALWATSCHER et al., 1967). Die Zusatzgrenze von H_2O_2 für Trinkwasser liegt bei 300 mg/l. Untersuchungen von MAHNEL (1977) an sieben Virusarten zeigten, daß 1 g H_2O_2 /l Trinkwasser nicht ausreicht, um einen Virusgehalt von $10^{3,0}$ KID₅₀/ml in 15 min. zu inaktivieren. Es kann somit angenommen werden, daß Wasserstoffperoxidkonzentrationen, die rasch und zuverlässig viruzid wirken, zur Trinkwasserdesinfektion ungeeignet sind und zur Ungenießbarkeit des Wassers führen.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Zellkulturen

Zwei Arten von primären Zellkulturen und eine Zelllinie wurden für die Vermehrung und den Nachweis der Virusarten verwendet.

Primärkulturen aus embryonalen Rinderlungen (BEL) wurden aus Rinderembryonen nach der Methode von MADIN et al. (1957) gewonnen, bei Bedarf wurden auch Subkulturen angelegt.

Kulturen embryonaler Hühnerfibroblasten (HEF) wurden mit der Methode von MAYR und KALCHER (1960) aus Embryonen 10 - 11 Tage bebrüteter Hühnereier angelegt und davon auch Subkulturen hergestellt.

Ferner wurden noch Kulturen der permanenten Zelllinie BSC-1 (Affennierenzellen) herangezogen.

Für die Anzucht von BEL-Kulturen und BSC-Kulturen diente folgendes Medium:

Eagles Minimal Essential Medium (MEM) mit

1 % Natriumbicarbonatlösung (8,8 %ig)

1 % non essential amino acids (NEAA)

5 % fetales Rinderserum (FRS)

100 I.E. Penicillin/ml

100 µg Streptomycin/ml

Das Erhaltungsmedium gleicher Zusammensetzung enthielt nur 2 % FRS.

Das Anzuchtmedium für die HEF-Kulturen unterschied sich vom oben genannten durch einen zusätzlichen Anteil von 10 % hydrolysiertem Laktalbumin (LA) in 5 %iger Lösung.

Rinderamnionflüssigkeit (RAF) mit Zusatz von 1,5 % Phenolrotlösung und den üblichen Antibiotika diente für HEF-Kulturen als Erhaltungsmedium.

3.1.2. Virusarten und Nachweissysteme

Folgende Virusarten wurden als Testviren herangezogen:

Vaccinia-Virus (Orthopoxvirus commune), Stamm Elstree;

Familie Poxviridae, Genus Orthopoxvirus, ca. 270 x 360 nm, DNS, behüllt.

Stammvirus: Kulturvirus der ersten Passage in HEF-Zellkulturen, Virusgehalt $10^{8,0}$ KID₅₀/ml.

Nachweis: BSC-Kulturen, cytopathischer Effekt (cpE) in Form von Zellysis in zwei bis vier Tagen.

Pseudowut (Aujeszky)-Virus, Stamm Hannover II;

Familie Herpesviridae, Subfamilie Alphaherpesvirinae, 150 - 170 nm, DNS, behüllt.

Stammvirus: Kulturvirus der vierten Passage in BEL-Kulturen, Virusgehalt $10^{7,5}$ KID₅₀/ml.

Nachweis: BSC-Kulturen, cpE mit Lysis in zwei bis vier Tagen.

Newcastle Disease-Virus, Stamm Montana;

Familie Paramyxoviridae, Genus Paramyxovirus, 180 - 250 nm, RNS, behüllt.

Stammvirus: Kulturvirus der ersten Passage in HEF-Kulturen, Virusgehalt $10^{6,5}$ KID₅₀/ml.

Kulturvirus als partiell gereinigte Allantoisflüssigkeit infizierter Hühnerbruteier, Virusgehalt $10^{9,5}$ KID₅₀/ml.

Nachweis: HEF-Kulturen, cpE mit Lysis in zwei bis drei Tagen.

Influenza-Virus Typ A, Stamm Hong-Kong 68;

Familie Orthomyxoviridae, Genus Influenzavirus, 80 - 100 nm, RNS, behüllt.

Stammvirus: Kulturvirus als partiell gereinigte Allantoisflüssigkeit infizierter Hühnerbruteier, Virusgehalt $10^{8,0}$ KID₅₀/ml.

Nachweis: 10 und 11 Tage bebrütete Hühnerbruteier, Allantois-

höhlenbeimpfung, Hämagglutination der Allantoisflüssigkeit (nach zwei Tagen geerntet) mit Hühnererythrozyten.

ECBO-Virus, Stamm LCR-4;

Familie Picornaviridae, Genus Enterovirus, 25 - 30 nm, RNS, unbehüllt.

Stammvirus: Kulturvirus der sechsten Passage in BEL-Kulturen, Virusgehalt $10^{8,0}$ KID₅₀/ml.

Nachweis: BEL-Kulturen, cpE mit Lysis in zwei bis drei Tagen.

In den graphischen Darstellungen wurden folgende Abkürzungen für die Virusarten verwendet:

Vaccinia-Virus	: Vacc
Aujeszky-Virus	: Auj
Newcastle Disease-Virus	: ND
Influenza-Virus Typ A	: Inf1
ECBO-Virus	: ECBO

3.1.3. Virus-Stammsuspensionen

Das Newcastle Disease-Virus und das Vaccinia-Virus wurden in HEF-Zellkulturen vermehrt, das Pseudowut (Aujeszky)- und das ECBO-Virus in BEL-Zellkulturen. BEL- und HEF-Kulturen, die zum Teil in Roux-Flaschen, zum Teil in Kunststoff-Zellkulturgefäßen (Nuncclon, 800 ml) dichtgewachsen waren, wurden nach dem Austausch des Anzuchtmediums gegen das entsprechende Erhaltungsmedium infiziert. Pro Flasche wurde 1 ml einer Virussuspension mit einem Titer von circa $10^{-7,0}$ KID₅₀/ml zugesetzt. Bis zur Ausbildung eines fast vollständigen cytopathischen Effekts (cpE) von circa 80 - 90 % wurden die Flaschen bei 37°C bebrütet. Nach einem Gefriertauen (-70°C), bei dem die Kulturzellen aufgeschlossen werden, erfolgte eine Behandlung mit Ultraschall, zwei min. bei 200 - 250 Watt mit Unterbrechungen (Branson Sonifier B 12). Aus dieser Suspension wurden die Zelltrümmer mittels Zentrifugation (10 min. bei circa 2000 g) entfernt. Der Überstand wurde in Mengen von 3 oder 10 ml bei -70°C eingefroren. Er bildete die jeweilige

Virus-Stammsuspension. Sein Virusgehalt wurde vor Versuchsbeginn ermittelt.

Die Virus-Stammsuspension des Newcastle Disease-Virus wurde zum Teil, die des Influenza-Virus Typ A ausschließlich aus infizierten Hühnerbruteiern gewonnen. 10 oder 11 Tage vorbebrütete Eier wurden mit 0,1 ml einer Virussuspension (Titer $10^{-7,0}$ - $10^{-8,0}$ KID₅₀/ml) in die Allantoishöhle infiziert, zwei weitere Tage bebrütet, anschließend für circa zwei Stunden bei 4°C gekühlt und die Allantoisflüssigkeit geerntet. Sie wurde abschließend bei 2000 g 10 min zentrifugiert und dann in Portionen von 3 und 10 ml bei -70°C gelagert.

3.1.4. Qualitativer und quantitativer Virusnachweis

Alle einbezogenen Virusarten mit Ausnahme des Influenza-Virus wurden qualitativ anhand ihrer virusspezifischen, deutlich fortschreitenden cytopathischen Effekte nachgewiesen. Hierzu dienten Röhrchenkulturen der entsprechenden subkultivierten Zellart. Beim Vaccinia- und Aujeszky-Virus erfolgte am dritten Tag p. inf. eine Kontrolle der Kulturröhrchen, die Endablesung wurde am vierten Tag p. inf. durchgeführt. Der ausgeprägte cpE des ECBO-Virus sowie des Newcastle Disease-Virus wurde am zweiten Tag p. inf. kontrolliert und am dritten Tag p. inf. letztmals abgelesen.

Zum Nachweis der Infektiosität des Influenza-Virus wurden Proben auf 10 - 11 Tage vorbebrütete Hühnereier in die Allantoishöhle verimpft. Die Hühnerembryonen sterben bei diesem Influenza-Stamm auch nach höheren Infektionsdosen nicht ab. Deshalb wurde nach zwei weiteren Tagen der Bebrütung bei 37°C die Allantoisflüssigkeit nach einem Kühlechock der Bruteier geerntet, mit Proben davon eine Hämagglutination mit Hühnererythrozyten im "Microtiter-System" (Greiner, U-Form Microtiterplatten) durchgeführt und diese nach 40 min. sowie auch nach 24 Stunden abgelesen. Kontrollen liefen parallel.

Zur Ermittlung des Virusgehalts in Wasserproben und Virus-Stammsuspensionen wurden diese in 10er Potenzen titriert. Als Verdünnungsmittel diente vorgekühlte phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS). Pro Verdünnungsstufe wurden jeweils vier Röhrchenkulturen mit je 0,1 ml beimpft. Die Berechnung der 50 % kulturinfektiösen Dosis (KID₅₀) nach

SPAERMAN und KAERBER (1931) erfolgte anhand des cpE. Die Signifikanz der Virustiter liegt nach dieser Methode bei $0,9 \log 10 \text{ KID}_{50}$. Die Titrierung und Titerberechnung verlief beim Influenza-Virus in gleicher Weise. Die Berechnungsbasis bildete dabei die positive Hämagglutination je Reagent (infizierte Brutei-Allantoisflüssigkeit).

Bei der angewandten quantitativen Methode liegt die untere Nachweisgrenze für den Virusgehalt bei $10^{0,5} \text{ KID}_{50}/\text{ml}$. In den graphischen Darstellungen der Versuchsergebnisse wurde diese Grenze mit einer gestrichelten Linie eingezeichnet (— — —). Meßwerte unterhalb dieser Grenze (Nachweis negativ) sind besonders gekennzeichnet (). Der angenommene Verlauf der Inaktivierungskurve wird ab dem letzten erfaßten positiven Wert durch eine unterbrochene Liniensführung dargestellt (---> --->).

3.1.5. Silberpräparate

Der Einfluß von Silber auf Viren in Wasser wurde mit vier Handelspräparaten geprüft. Zwei davon, *Micropur MP 10.000^R* und *Certisil 100^R* enthalten ausschließlich Silberionen in komplex gebundener Form als wirksame Komponente.

Micropur MP 10.000^R (Deutsche Katadyn GmbH, München) ist ein komplexes Silbersalz und liegt als weißes Pulver vor. Seine Dosierung zur Entkeimung von Wasser wird mit 1 g / 100 l empfohlen. *Certisil 100^R* (Certiman GmbH, Taunusstein), ebenfalls ein komplexes Silbersalz, ist weiß und pulverförmig. Zur Entkeimung von Wasser wird eine Dosierung von 1 g / 100 l angegeben.

Zwei weitere Handelsmittel waren Kombinationspräparate, die zwei getrennte Wirkstoffkomponenten, die Silberkomponente und eine zweite mikrobizide Substanz mit "Sofortwirkung" enthalten.

Certisil combina 10^R (Certiman GmbH, Taunusstein) besitzt neben einem komplexen Silbersalz eine Chlor-abspaltende Komponente. Nach den Angaben des Herstellers wird das weiße Pulver mit 1 g auf 10 l Wasser dosiert.

Sanosil 25-T^R (Sanosil-Chemie GmbH, Köln) enthält neben kolloidal gelöstem Silber circa 49 % Wasserstoffperoxid in stabili-

sierter Form, eine Sauerstoff-freisetzende Komponente. Die klare, farblose Flüssigkeit, die in konzentrierter Form ätzend wirkt, soll mit 30 bis 50 mg / l Wasser dosiert werden.

Alle Silberpräparate wurden während des Untersuchungszeitraumes von circa neun Monaten bei 4°C im Kühlschrank gelagert.

Sämtliche Inhaltsstoffe der vier Handelspräparate sind im Lebensmittelrecht der Bundesrepublik Deutschland (ZIPFEL, 1983) folgendermaßen aufgeführt:

S i l b e r (EWG-Nr. E 174)

Zusatzstoff-Verkehrs-Verordnung, Liste 5

Zusatzstoff-Zulassungs-Verordnung, Anlage 6 A I

Trinkwasser-Aufbereitungs-Verordnung, § 1 (2), 5

Silber, Silberchlorid, Natriumsilberchlorid-Komplex und Silbersulfat; die Stoffe dürfen in 1 l Trinkwasser höchstens in einer Menge von einem mg Silber enthalten sein (nach abgeschlossener Aufbereitung).

C h l o r

Zusatzstoff-Verkehrs-Verordnung, Liste 8

Trinkwasser-Verordnung, § 9

Trinkwasser-Aufbereitungs-Verordnung, § 1 (2), 1

In 1 l Trinkwasser dürfen höchstens 0,3 mg wirksames Chlor enthalten sein (in Ausnahmefällen kurzfristig bis 0,6 mg / l l Trinkwasser).

W a s s e r s t o f f p e r o x i d

Zusatzstoff-Verkehrs-Verordnung, Liste 15

Zusatzstoff-Zulassungs-Verordnung, Anlage 2

Der im Präparat *C e r t i s i l c o m b i n a 1 0 R* enthaltene Stabilisator ist (nach Angaben des Herstellers) nach § 1, Nr. 1 und § 2, Nr. 4 als technischer Hilfsstoff im Sinne von § 4, Nr. 3 des Deutschen Lebensmittelgesetzes zur Zubereitung von Trinkwasser zu-

gelassen.

Im weiteren Text werden die Handelspräparate wie folgt bezeichnet:

Micropur MP 10.000 ^R	: Micropur
Certisil 100 ^R	: Certisil
Certisil combina 10 ^R	: Certisil combina
Sanosil 25-T ^R	: Sanosil

3.1.6. Wasser und Versuchsgefäße

In allen Versuchen wurde Münchener Trinkwasser aus dem städtischen Leitungssystem verwendet. Genaue Analysenwerte des Münchener Wassers können bei OTTIS (1976) entnommen werden.

Insgesamt vier Wasserchargen, ungechlort und von größerem Volumen, wurden nach unmittelbarer Sterilfiltrierung in Mengen von je 1000 ml in dicht verschließbare Glasflaschen abgefüllt und bis zum Versuchsbeginn bei Raumtemperatur gelagert. Vor Beginn der Versuche, die bei 10°C durchgeführt wurden, sind entsprechende Flaschen im Wasserbad auf 10°C gekühlt worden.

Nach Beendigung der Versuche wurden alle Wasserflaschen, die mit Silber in Berührung gekommen waren, mit Natriumthiosulfat über zwei Tage behandelt.

3.1.7. Versuchsanordnung

Vor Versuchsbeginn wurden die Wasserflaschen einige Tage bei Zimmertemperatur gelagert bzw. im Wasserbad auf 10°C gekühlt.

Circa 30 min. vor der Viruszugabe wurden die reinen Silberpräparate in den verschiedenen gewünschten Mengen den Wasserflaschen zugesetzt. Um bei Kombinationspräparaten einen Wirkungsverlust der schnell wirkenden Komponente zu verhindern, wurden diese Präparate erst unmittelbar vor der Zugabe des Virus dosiert. In jedem Versuch wurde eine Kontrollflasche mit gleichem Virusgehalt wie die anderen Flaschen des Versuches, jedoch ohne sonstige Zusätze mitgeführt.

Die bei -70°C gelagerten Virus-Stammuspensionen wurden unmittelbar vor dem Ansatz der Versuche aufgetaut, im Eisbad auf einen Titer von

$10^{-6,5}$ bis $10^{-7,5}$ KID₅₀ /ml eingestellt (zur Verdünnung diente gekühltes, steril filtrierte Münchener Trinkwasser), den Wasserflaschen derselben Versuchsreihe in gleicher Menge zudosiert und gut vermischt. In den Versuchen, wo eine zweite Viruskontaminierung der Versuchswasserflaschen geplant war, wurde in gleicher Weise verfahren, jedoch ohne neuen Silbersalzzusatz. Auch hierbei wurde eine neue Viruskontrolle angesetzt.

In den Versuchen bei Raumtemperatur lagerten die Wasserflaschen abgedunkelt in einem Laborschrank. Die Temperatur wurde zweimal täglich kontrolliert und ein Mittelwert für diesen Tag protokolliert. Die Wasserflaschen der Versuche bei 10°C standen unter Lichtausschluß in einem Wasserbad mit konstant 10°C. Nur zur Probenentnahme wurden die Flaschen kurzfristig von ihrem Standort entfernt.

Bei der Titrierung des Virusgehalts von Versuchs- und Kontrollproben wurde die Verdünnung und Verimpfung rasch und zügig durchgeführt, wodurch die Einwirkung der Prüfsubstanzen umgehend ausgeschaltet wurde.

3.2. Versuche und Ergebnisse

3.2.1. Stabilität der Viren im Wasser bei Raumtemperatur

Unter natürlichen Verhältnissen sind kontaminierende Viren in Trink- und Oberflächenwässern nur selten zu finden. Sie erreichen dann allenfalls extrem schwache Konzentrationen von wenigen infektiösen Einheiten pro Liter.

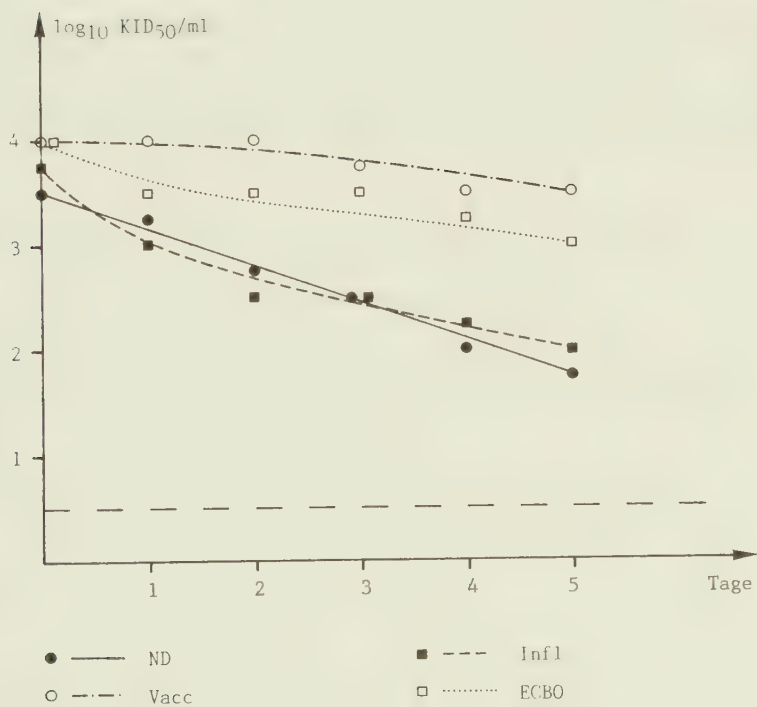
In Versuchen zur Prüfung einer Silberwirkung auf Viren war dem zwar Rechnung zu tragen, doch mußte mit Viruskonzentrationen im Wasser gearbeitet werden, die im Zeitverlauf viruzide oder destabilisierende Effekte signifikant erkennbar werden lassen. Aus diesen Gründen wurde im Versuch überwiegend mit Ausgangs-Viruskonzentrationen von $10^{3,0} - 10^{4,0}$ KID₅₀/ml gearbeitet, die den unterschiedlichen Anforderungen weitgehend gerecht werden.

Bei allen Versuchsreihen, in denen die Einwirkung von Silberionen auf in Trinkwasser suspendierte Viren geprüft wurde, liefen Kontrollen ohne Silberzusatz parallel (vergl. 3.1.7.). Die entsprechenden Probenflaschen enthielten nur jeweils die in Wasser suspendierten Testviren und waren gleichen Bedingungen ausgesetzt.

Bei vier der fünf einbezogenen Testviren konnte über laufend entnommene Wasserproben aus diesen Viruskontrollen ihre Stabilität bzw. die "natürliche" Virusinaktivierung bei Raumtemperatur verfolgt werden. Bei Verwendung einer Virusart in verschiedenen Versuchen bei Raumtemperatur wurden die Temperaturwerte zusammengefaßt und die Ergebnisse gemittelt. Sie sind in Abb. 1 dargestellt.

Als bei weitem stabilste der vier Virusarten erwies sich das Vaccinia-Virus; innerhalb von fünf Tagen sank der Virusgehalt nur um etwa eine halbe Zehnerpotenz ab. In der Stabilität folgte das ECBO-Virus, bei dem eine Abnahme des Virusgehalts um eine Zehnerpotenz zu verzeichnen war. Das Newcastle Disease- und das Influenza-Virus verhielten sich in etwa gleich; beide Virus-Wassersuspensionen verloren innerhalb der genannten Zeit $1,75 \log 10$ KID₅₀ an Virusgehalt.

Abb. 1: Stabilität der 4 Virusarten im Wasser
bei Zimmertemperatur



Die Temperaturverhältnisse während des Versuchszeitraumes der vier Virusarten:

ND	:	19,2 - 25,5°C, im Durchschnitt 20,8°C
ECBO	:	19,6 - 24,1°C, im Durchschnitt 20,7°C
Inf1	:	19,8 - 21,1°C, im Durchschnitt 20,2°C
Vacc	:	19,1 - 24,5°C, im Durchschnitt 22,0°C

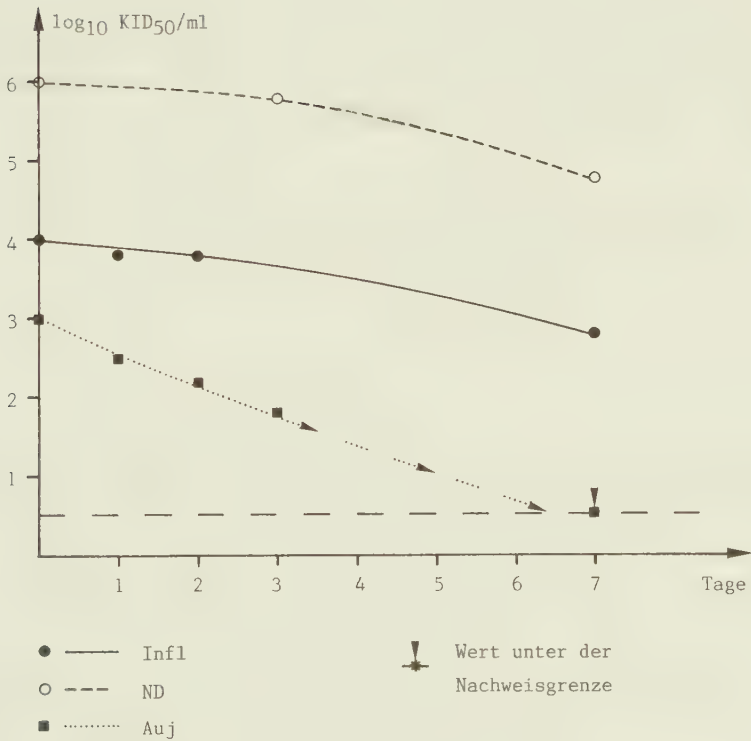
3.2.2. Stabilität einiger Virusarten in Wasser von 10°C

Bei drei Testviren, mit denen Versuche auch bei 10°C Wassertemperatur angesetzt wurden, ließ sich die "natürliche" Stabilität in Trinkwasser auch unter den kühlen, für die Konservierung der Virusinfektiosität günstigen Bedingungen anhand der Proben aus den Viruskontrollen verfolgen.

Das bekanntermaßen labile Aujeszky-Virus verhielt sich selbst bei dieser Temperatur sehr instabil, der Virusgehalt des Wassers sank innerhalb von sieben Tagen um mehr als zwei Zehnerpotenzen ab. Bei Influenza- und Newcastle Disease-Virus waren die Verluste an Infektiosität geringer als bei Raumtemperatur und betrugen etwa eine Zehnerpotenz, was immerhin einer Reduktion von 90 % entspricht.

Die Ergebnisse sind in Abb. 2 skizziert.

Abb. 2: Stabilität der 3 Virusarten im Wasser
bei 10° C



3.2.3. Einfluß der Silberpräparate M i c r o p u r und C e r t i s i l auf Viren im Wasser

Newcastle Disease-Virus

Neben der grundsätzlichen Empfindlichkeit des Virus gegenüber Silber-
ionen sollte am Beispiel des Newcastle Disease-Virus auch die Ab-
hängigkeit der Wirkung von der Silberkonzentration untersucht
werden.

Im Versuch wurde deshalb neben der empfohlenen Dosierung für M i -
c r o p u r und C e r t i s i l von 10 mg/ l Wasser (Verdü-
nung von 1 : 100.000) bei beiden Präparaten auch die Wirkung der
10- und 100-fach stärkeren Konzentration auf das Paramyxovirus über-
prüft. In beiden letztgenannten Konzentrationen gingen die Präparate
nicht vollständig in Lösung sondern bildeten einen grauen Boden-
satz.

Bei identischer Versuchsanordnung wurde die Prüfung bei Zimmertem-
peratur und bei 10°C durchgeführt, um parallel den Einfluß einer
solchen Temperaturdifferenz zu erfassen. Die Raumtemperatur schwankte
während des Versuchszeitraumes zwischen 19,2°C und 20,0°C.

Die Ergebnisse aus diesen Versuchsreihen sind in den Abbildungen
3 bis 6 dargestellt.

Bei Zimmertemperatur fiel der Gehalt an Newcastle Disease-Virus in
den Wässern mit zugesetzten Silberkomplexsalzen im Vergleich zu den
Viruskontrollen nur geringfügig ab (Abb. 3 und 4), erreichte jedoch
nur bei C e r t i s i l die Grenze der Signifikanz. Bei den ver-
schiedenen Dosierungen der Präparate ergaben sich keine signifikanten
Unterschiede bezüglich der Infektiositätsverluste des Paramyxovirus.
Bei der Verdünnung 1 : 10.000 von C e r t i s i l (Abb. 4) ent-
steht der Eindruck einer etwas deutlicheren Wirksamkeit. Der Unter-
schied liegt jedoch innerhalb der methodischen Varianz. Am dritten
Tag war der Virusverlust bei allen behandelten Virussuspensionen
nahezu einheitlich sehr gering. Eine viruzide Wirkung der Silberprä-
parate im echten Sinne trat nicht ein.

Bei der Reaktionstemperatur von 10°C wurde im Vergleich zu den Versuchen bei Raumtemperatur eine etwa 100-fach stärkere Virusdichte im Wasser eingestellt. Trotzdem verhielten sich beide Silberpräparate im Vergleich zur unbehandelten Viruskontrolle in allen Verdünnungen untereinander wie auch im Vergleich zum Versuch bei Zimmertemperatur in etwa gleich. Scheinbare Unterschiede in den abgebildeten Kurven liegen noch innerhalb der Signifikanzbreite. Hier deutete sich, wie auch schon im Versuch bei Zimmertemperatur, eine langsamer einsetzende Wirkung bei der Gebrauchsverdünnung von *M i c r o p u r* an, als bei den anderen zwei Verdünnungen. Am 11. Tag lag der Virusgehalt der mit *M i c r o p u r* behandelten Virus-suspension um 1 bis 1,5 Zehnerpotenzen unter dem Wert der Viruskontrolle, wobei die stärkste Silberkonzentration den deutlichsten, wenn auch gerade nur signifikanten Infektiositätsverlust verursachte (Abb. 5).

Abb. 3: Newcastle Disease-Virus, Zimmertemperatur
Micropur

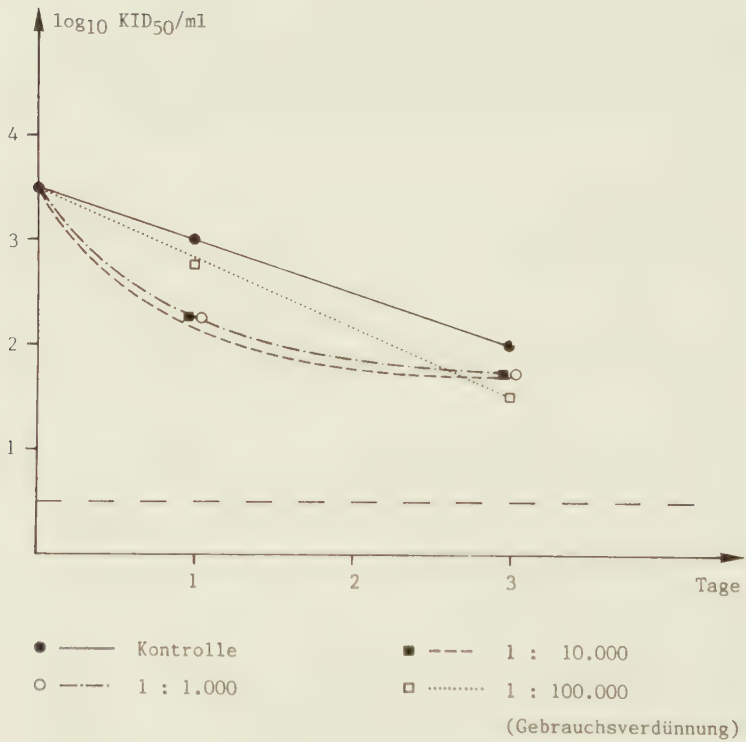


Abb. 4: Newcastle Disease-Virus, Zimmertemperatur
C e r t i s i l

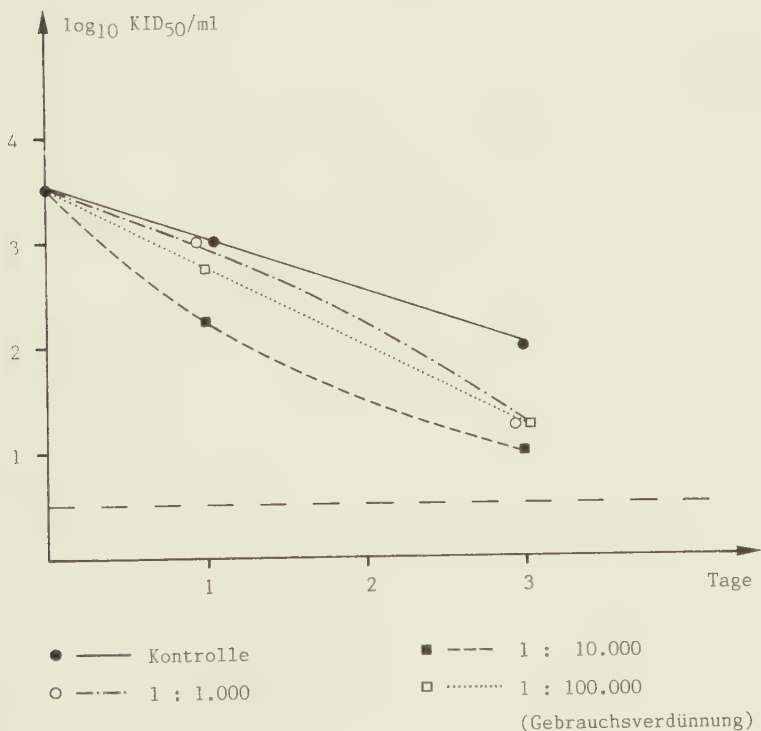


Abb. 5: Newcastle Disease-Virus, 10° C
Micropur

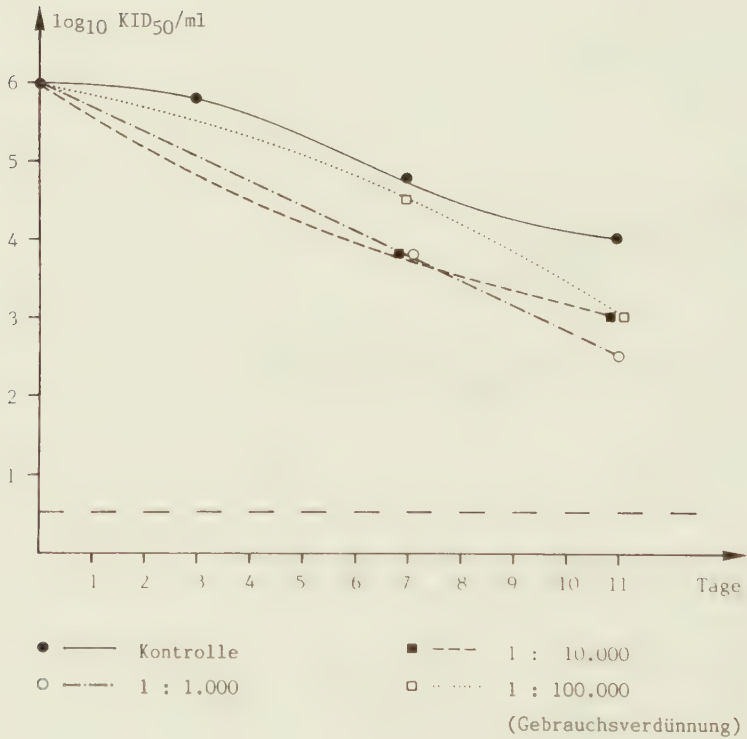
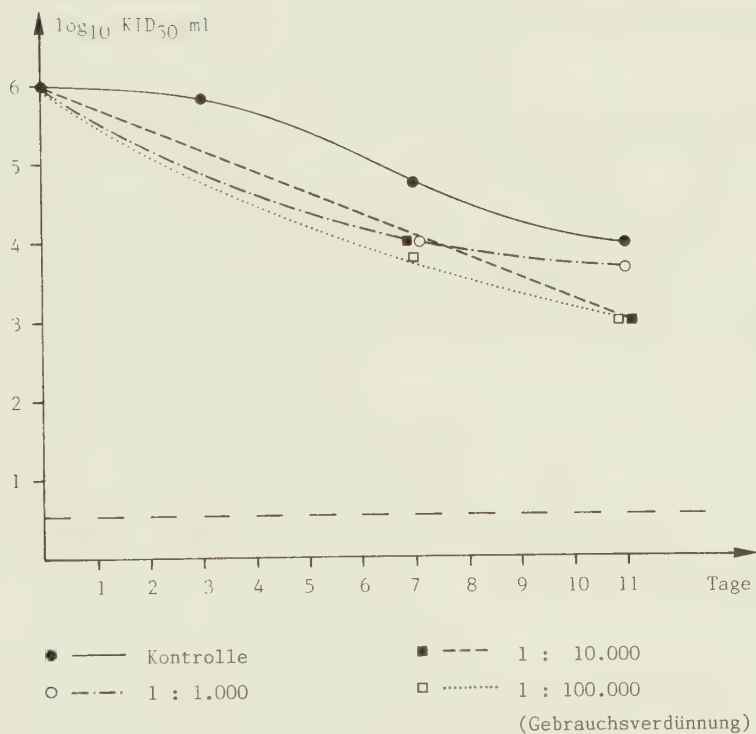


Abb. 6: Newcastle Disease-Virus, 10° C

vertikal



Vaccinia-Virus

Dieses bekannt wasserstabile Orthopockenvirus diente als Modell eines komplex aufgebauten, großen behüllten Virus. Im Verlauf eines ersten zweiphasigen Versuchs sollte zugleich geprüft werden, ob über eine sekundäre homologe Kontaminierung des Wassers ohne erneuten Silberzusatz eine länger bestehende antivirale Wirkung nachweisbar ist. Die zweite Kontaminierung der Versuchsflaschen fand am achten Versuchstag statt (vergl. Abb. 7 und 8).

M i c r o p u r und C e r t i s i l wurden in ihrer jeweiligen Gebrauchsverdünnung von 1 : 100.000 sowie in den Verdünnungen 1 : 10.000 und 1 : 1.000 untersucht.

Die Raumtemperatur schwankte während der Versuche um $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 7 und 8 zusammengefaßt.

Dieses Virus wurde durch M i c r o p u r innerhalb von zwei Tagen inaktiviert, während der Virusgehalt der silberfreien Kontrolle am zweiten Tag noch den Ausgangstitern von $10^{-4,0}$ KID₅₀/ml aufwies. Der verzögerte Wirkungseintritt bei den Verdünnungen 1 : 100.000 und 1 : 10.000 hob sich hier deutlich von der schnelleren Wirkung der stärksten Silberkonzentration ab.

Auch in den mit C e r t i s i l behandelten Virussuspensionen konnte in der ersten Versuchsphase nach 48 Stunden kein Virus mehr nachgewiesen werden. In der Verdünnung 1 : 1.000 inaktivierte C e r t i s i l bereits nach 24 Stunden das Virus vollständig, während die Suspensionen mit niedrigeren Silberionenkonzentrationen nach 24 Stunden noch einen Titer von $10^{-3,0}$ bzw. $10^{-3,25}$ KID₅₀/ml aufwiesen (vergl. Abb. 8).

Während der zweiten Versuchsphase, nach der Virus-Rekontamination am achten Tag, wurde der Verlauf der Virus-Inaktivierung nur 30 Stunden lang verfolgt. Die Inaktivierung des Vaccinia-Virus folgte bei allen Verdünnungen beider Silberpräparate fast identisch dem Verlauf im ersten Versuchsteil.

Die im Vergleich zum vorher untersuchten Newcastle Disease-Virus überraschend klare antivirale Wirkung der Silberung im Wasser auf

dieses Orthopockenvirus ließ sich somit in fast gleicher Stärke über mindestens neun Tage nachweisen.

In einem anschließenden zweiten Versuch mit dem Vaccinia-Virus sollte überprüft werden, ob bei höheren Virusgehalten im Wasser eine ähnlich gute Wirkung vorhanden ist und hinsichtlich der Inaktivierungsdynamik Unterschiede erkennbar werden. Hierzu wurde die Virussuspension auf einen Ausgangs-Virusgehalt von $10^{6,0}$ KID₅₀/ml eingestellt. Beide Silberkomplexsalze wurden nur in ihrer Gebrauchsverdünnung (1 : 100.000) eingesetzt. Die Reaktionstemperatur lag bei $21 \pm 1^\circ\text{C}$.

Die Ergebnisse können der Abb. 9 entnommen werden.

Bereits nach 24 Stunden war durch die zulässige Gebrauchskonzentration beider Silberpräparate alles Virus bis zur Nachweisgrenze inaktiviert. Im Vergleich zum ersten Versuch mit dem Vaccinia-Virus verlief die Inaktivierung mit den Gebrauchsverdünnungen hier eindeutig rascher. Der Unterschied ist auf technische Umstände zurückzuführen. Dies wird durch den Verlauf der Viruskontrollkurve deutlich; sie dokumentiert für diesen Versuch ebenfalls einen "normalen" Virusverlust im Wasser von 90 % unter den gleichen Bedingungen.

Abb. 7: Vaccinia-Virus, Zimmertemperatur
Micropur

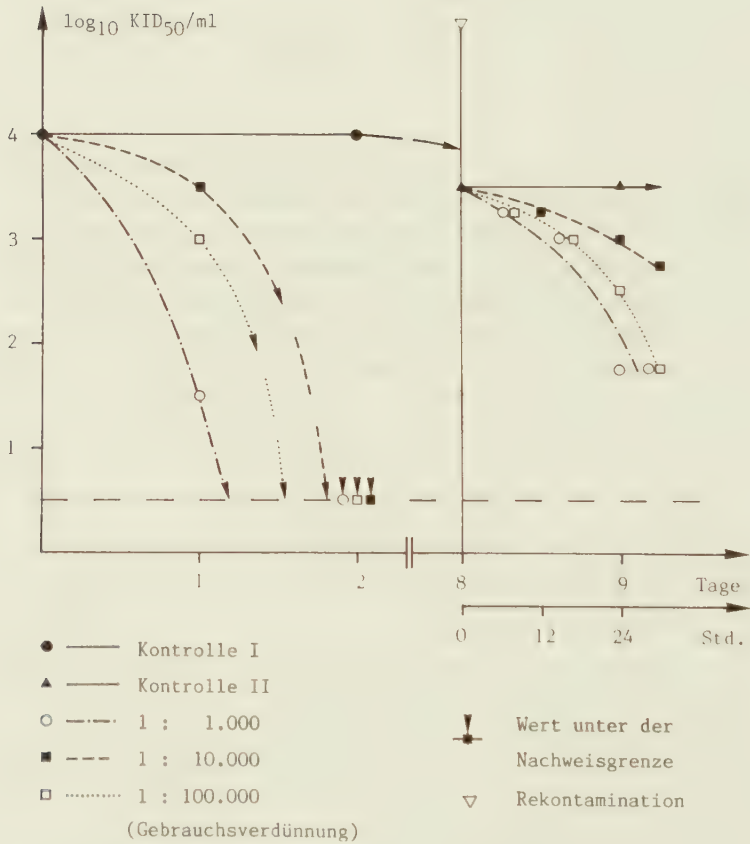


Abb. 8: Vaccinia-Virus, Zimmertemperatur
Certisil

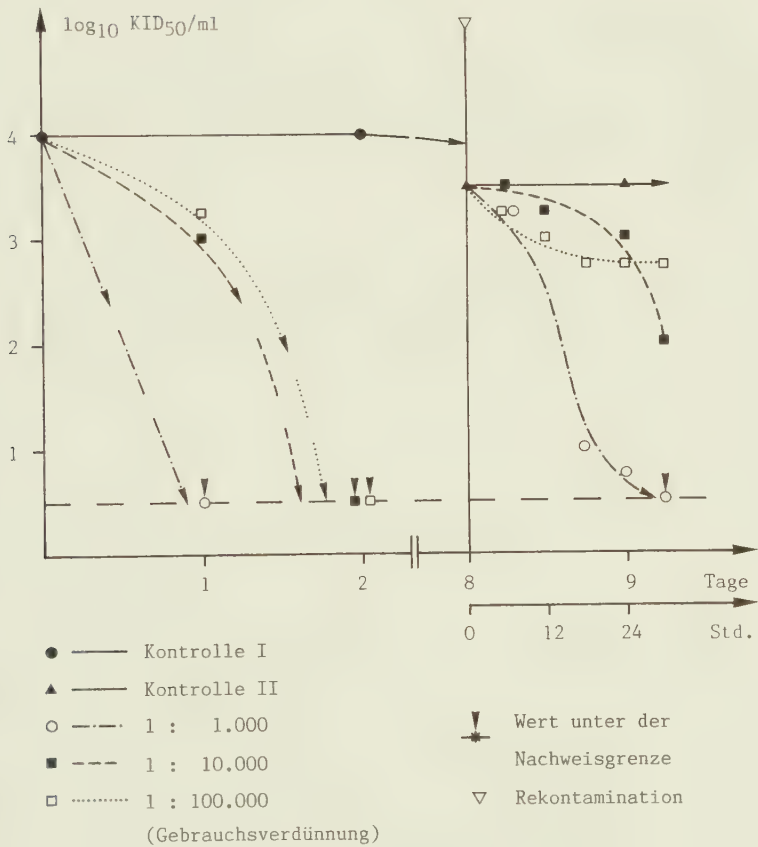
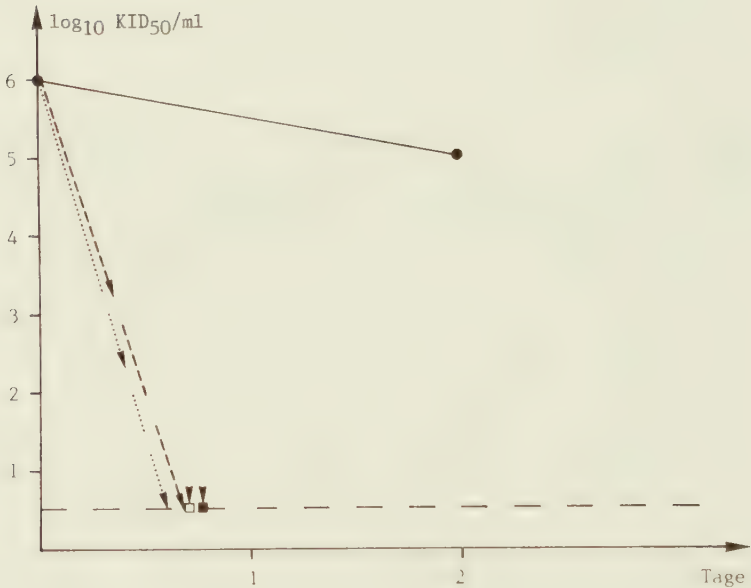


Abb. 9: Vaccinia-Virus, Zimmertemperatur

M i c r o p u r

C e r t i s i l



● — Kontrolle

! Wert unter der
Nachweisgrenze

■ --- Micropur
1 : 100.000
(Gebrauchsverdünnung)

□ Certisil
1 : 100.000
(Gebrauchsverdünnung)

Pseudowut (Aujeszky)-Virus

Die Prüfung dieses bekannt sehr labilen Herpesvirus auf seine Empfindlichkeit gegen Silberionen im Wasser wurde nur bei 10°C Reaktions-temperatur durchgeführt, da die große Labilität dieses Virus in Wasser bei Raumtemperatur und seine rasche natürliche Wärmeinaktivierung keine schlüssigen Aussagen erwarten ließ.

Beide Silberpräparate wurden ausschließlich in ihrer Gebrauchsverdünnung von 1 : 100.000 eingesetzt.

Die Ergebnisse sind in Abb. 10 dargestellt.

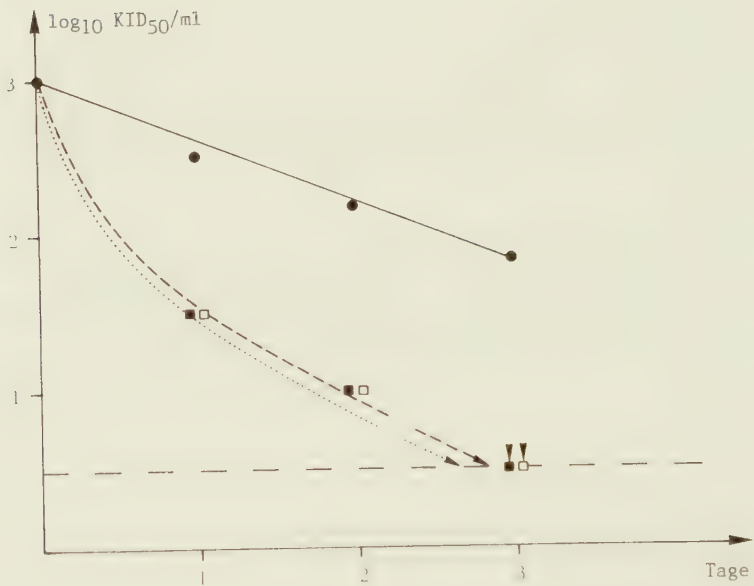
Der Inaktivierungsgang dieses Virus - sowohl unter Einfluß von *M i c r o p u r* als auch von *C e r t i s i l* - war praktisch identisch. Am dritten Versuchstag waren die Wasserproben Virus-negativ, während der Titer der Viruskontrolle noch $10^{-1,75}$ KID₅₀/ml betrug.

Dieses Ergebnis wies darauf hin, daß die Silberpräparate auch bei einer relativ niedrigen Wassertemperatur gegenüber dem Aujeszky-Virus einen Effekt bewirken, der die natürlichen Infektiositätsverluste des Virus in Wasser deutlich beschleunigt bzw. verstärkt.

Abb. 10: Aujeszky-Virus, 10° C

M i c r o p u r

C e r t i s i l



- — Kontrolle
- - - - Micropur
1 : 100.000
(Gebrauchsverdünnung)
- ····· Certisil
1 : 100.000
(Gebrauchsverdünnung)

! Wert unter der
Nachweisgrenze

Influenza-Virus

Am Beispiel dieses relativ wasserstabilen Virus wurden beide Silberpräparate in der hohen Dosierung von 1 g/l Wasser (Verdünnung 1 : 1.000) getestet; die Reaktionen wurden ebenfalls nur bei 10°C angesetzt.

Die Ergebnisse enthält die Abb. 11.

Ohne Silberzusatz fiel der Virusgehalt in Wasser von 10°C innerhalb von 10 Tagen um zwei Zehnerpotenzen ab, was einem Verlust der Infektiosität von 99 % entspricht.

C e r t i s i l bewirkte einen wesentlich schnelleren Infektiositätsverlust des Orthomyxovirus in Wasser. Am dritten Tag lag der Virusgehalt bereits 1,5 Zehnerpotenzen unter dem der Kontrolle und am siebten Versuchstag unter der Nachweisgrenze von $10^{0,5}$ KID₅₀ /ml. Die mit M i c r o p u r versetzte Virussuspension ließ erst nach drei Tagen eine gegenüber der Kontrolle beschleunigte Inaktivierung erkennen, die dann parallel zur C e r t i s i l - Wirkung verlief. Zur völligen Inaktivierung des Influenza-Virus benötigte M i c r o p u r zehn Tage, drei Tage mehr als C e r t i s i l . Auch in 100-fach höherer als der zulässigen Gebrauchskonzentration war der antivirale Effekt beider Silbersalze in Wasser gegenüber dem labilen Influenza-Virus nur gering. Bemerkenswert ist jedoch die etwas "bessere" Wirkung in der überhöhten Konzentration von C e r t i s i l im Vergleich zu M i c r o p u r .

Am Beispiel des Influenza A-Virus wurde mit M i c r o p u r ein zweiter Versuch über nur drei Tage bei Raumtemperatur durchgeführt. Durch eine 100-fach differierende Dosierung des Silberkomplexsalzes sollte die Möglichkeit einer Wirksamkeitssteigerung geklärt werden.

Neben der Gebrauchsverdünnung (1 : 100.000) wurde die Verdünnung 1 : 1.000 getestet.

Die Reaktionstemperatur, deren Bezug im Vergleich zum vorangegangenen Versuch ebenfalls von Interesse war, lag im Durchschnitt bei $20 \pm 1^\circ\text{C}$.

Die Abb. 12 enthält die Ergebnisse dieser Prüfung.

Die Ergebnisse differierten im Vergleich zu denen bei 10°C in Bezug auf Dynamik der Virusverluste und Beschleunigung der Inaktivierung nicht wesentlich.

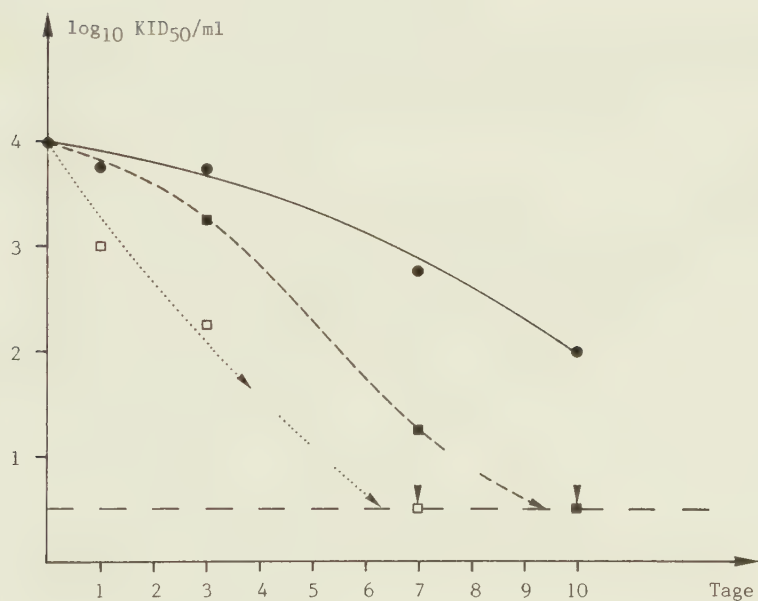
Der Infektiositätsverlust in den behandelten Virussuspensionen war im Vergleich zur Viruskontrolle ebenfalls nur mäßig beschleunigt. Das Influenza-Virus wurde durch die Gebrauchsverdünnung von *M i c r o - p u r* in drei Tagen inaktiviert. Die 100-fach höhere Silberkonzentration wies keinen Vorteil auf; die sogar verzögert erscheinende Effektivität liegt aber gerade nur noch in der Grenze der Signifikanz von $0,9 \log 10$.

Die antivirale Wirkung des Silbersalzes gegenüber diesem Orthomyxovirus ließ sich somit durch Temperaturerhöhung wie auch Dosiserhöhung nicht verbessern.

Abb. 11: Influenza-Virus Typ A, 10° C

M i c r o p u r

C e r t i s i l



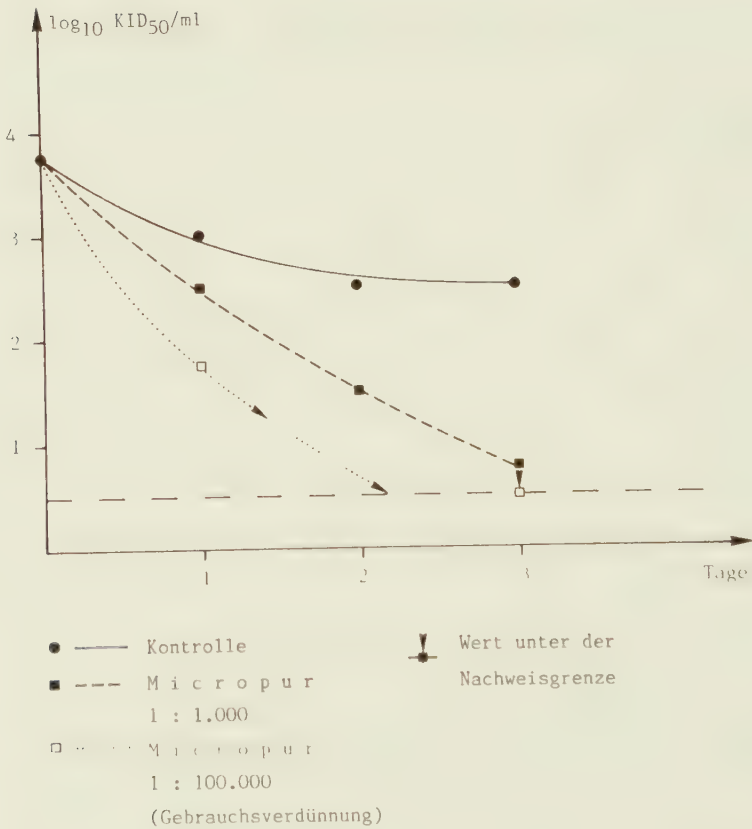
● — Kontrolle

■ - - - Micropur
1 : 1.000

□ Certisil
1 : 1.000

! Wert unter der
Nachweisgrenze

Abb. 12: Influenza-Virus Typ A, Zimmertemperatur
Micropur



ECBO-Virus

Dieses gegen chemische Wirkstoffe im allgemeinen und unter den Viren ausnehmend stabile Picornavirus wurde als einziges unbehülltes Virus in die Versuche einbezogen. Neben der grundsätzlichen Silberempfindlichkeit des Virus sollten etwaige Wirkungsunterschiede der beiden Silberpräparate in ihren empfohlenen Dosierungen von 10 mg/l Wasser auf unbehüllte Viren herausgestellt werden.

Die Raumtemperatur während des Versuchszeitraumes lag bei $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Die Ergebnisse sind in Abb. 13 skizziert.

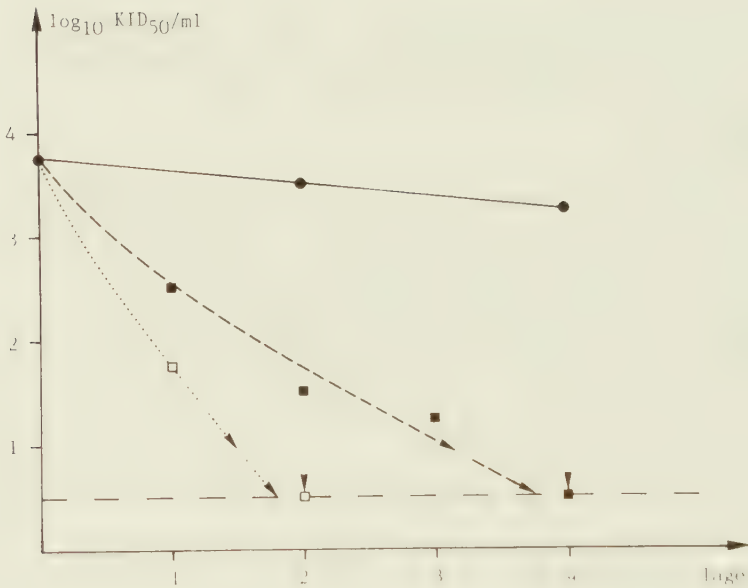
Die Viruskontrolle ohne Silbersalzzusatz verlor innerhalb der Versuchszeit von vier Tagen nur geringfügig an Infektiosität und bestätigte die beachtliche Wasserstabilität des Virus auch bei Raumtemperatur.

M i c r o p u r und C e r t i s i l hatten einen - im Vergleich zu behüllten Viren - überraschend guten Effekt gegen dieses Enterovirus. C e r t i s i l eliminierte dabei die Infektiosität des Virus im Wasser etwa doppelt so schnell wie M i c r o p u r. Der zu dieser Zeit nachgewiesene Titerunterschied zur unbehandelten Viruskontrolle war beachtlich und betrug im Falle von C e r t i s i l 3,5, beim M i c r o p u r 3,25 Zehnerpotenzen.

Abb. 13: ECBO-Virus, Zimmertemperatur

M i c r o p u r

C e r t i s i l



- — Kontrolle
- - - - Micropur
1 : 100.000
(Gebrauchsverdünnung)
- Certisil
1 : 100.000
(Gebrauchsverdünnung)

! Wert unter der
Nachweisgrenze

3.2.4. Effekte der Silber-Kombinationspräparate C e r t i s i l c o m b i n a und S a n o s i l auf Viren im Wasser

Die beiden Silber-Kombinationspräparate enthalten neben einem Silberkomplexsalz je eine sogenannte sofortwirkende mikrobizide Komponente. Bei C e r t i s i l c o m b i n a ist dies ein Wirkstoff, der aktives Chlor freisetzt, bei S a n o s i l der Wasserstoffperoxid-Anteil.

Die beiden Präparate wurden in ihren empfohlenen Gebrauchskonzentrationen jeweils in zweiphasigen Versuchen mit Rekontamination des behandelten Wassers auf ihre antivirale Wirkung gegen vier der Testvirusarten, das Newcastle Disease-, das ECBO- und das Vaccinia-Virus bei Raumtemperatur, und das Aujeszky-Virus bei 10°C untersucht.

Zur Prüfung einer Sofortwirkung erfolgten zunächst Probenentnahmen nach 15, 30 und 60 min., anschließend bei Bedarf in Tagesabständen. Für die Ermittlung einer anhaltenden antiviralen Wirksamkeit im Wasser wurde nach einigen Tagen, nachdem primär zugesetztes Virus nicht mehr nachweisbar war, jeweils die virale Rekontamination durchgeführt und Proben wie beschrieben auf Restvirus geprüft.

Newcastle Disease-Virus

Dieses Virus war in seiner Wasserstabilität durch Zusatz von reinen Silberionen zum Wasser nicht wesentlich beeinträchtigt worden (vergl. 3.2.3., Abb. 5 und 6). Antivirale Wirkungen, die mit den Kombinationspräparaten beobachtet werden konnten, können deshalb weitgehend dem Effekt ihrer oxidierenden Zweitkomponenten zugeordnet werden.

Während des Versuchszeitraums lag die Temperatur bei $22 \pm 2^\circ\text{C}$.

Das Newcastle Disease-Virus verhielt sich nur bei Anwesenheit von S a n o s i l, das einen hohen Anteil Wasserstoffperoxid enthält, deutlich labiler.

Die Ergebnisse dieser Prüfung sind in Abb. 14 aufgezeigt.

S a n o s i l inaktivierte das Newcastle Disease-Virus innerhalb von drei Tagen, seine Wirkung hielt nach 14 Tagen noch unvermindert an und führte zu einer Beschleunigung der natürlichen temperaturbedingten Vi-

rusverluste im Wasser etwa um das Vierfache.

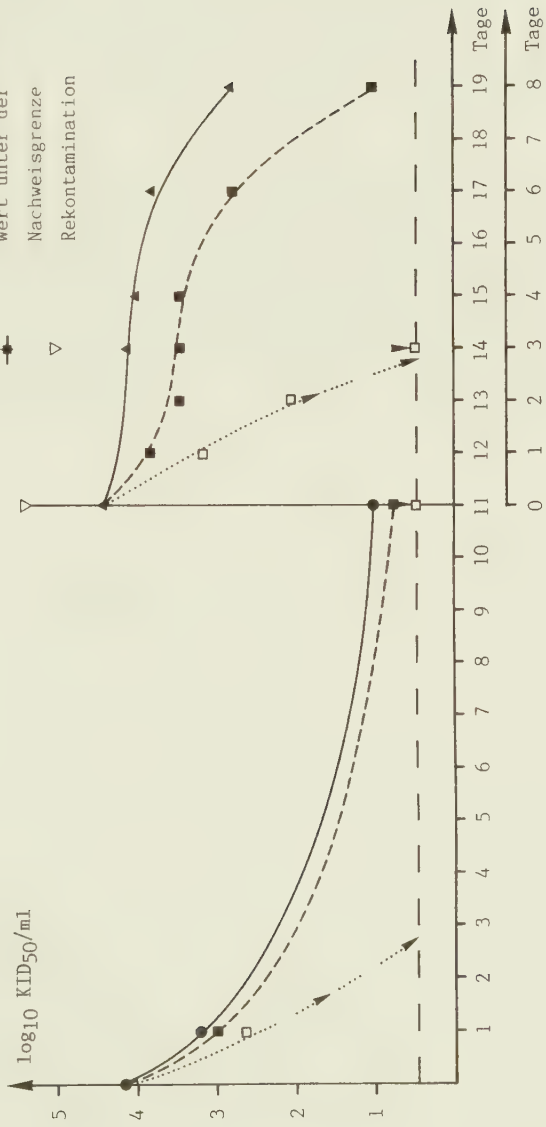
Die Chlorkomponente in C e r t i s i l c o m b i n a brachte zunächst im Vergleich zur Kontrolle und zum reinen Silberkomplexsalz keinen signifikanten antiviralen Effekt. Nach der Rekontamination des Wassers am 11. Versuchstag wurde zwar eine signifikante, aber nur mäßige Wirkung auf das Newcastle Disease-Virus erkennbar. Sie blieb gegenüber S a n o s i l ineffektiv.

Abb. 14: Newcastle-Disease-Virus, Zimmertemperatur

Certisil combina

Sanosil

- Kontrolle I
- ▲ Kontrolle II
- Certisil combina
- (Gebrauchsverdünnung)
- Sanosil
- (Gebrauchsverdünnung)
- Wert unter der Nachweisgrenze
- ▽ Rekontamination



ECBO-Virus

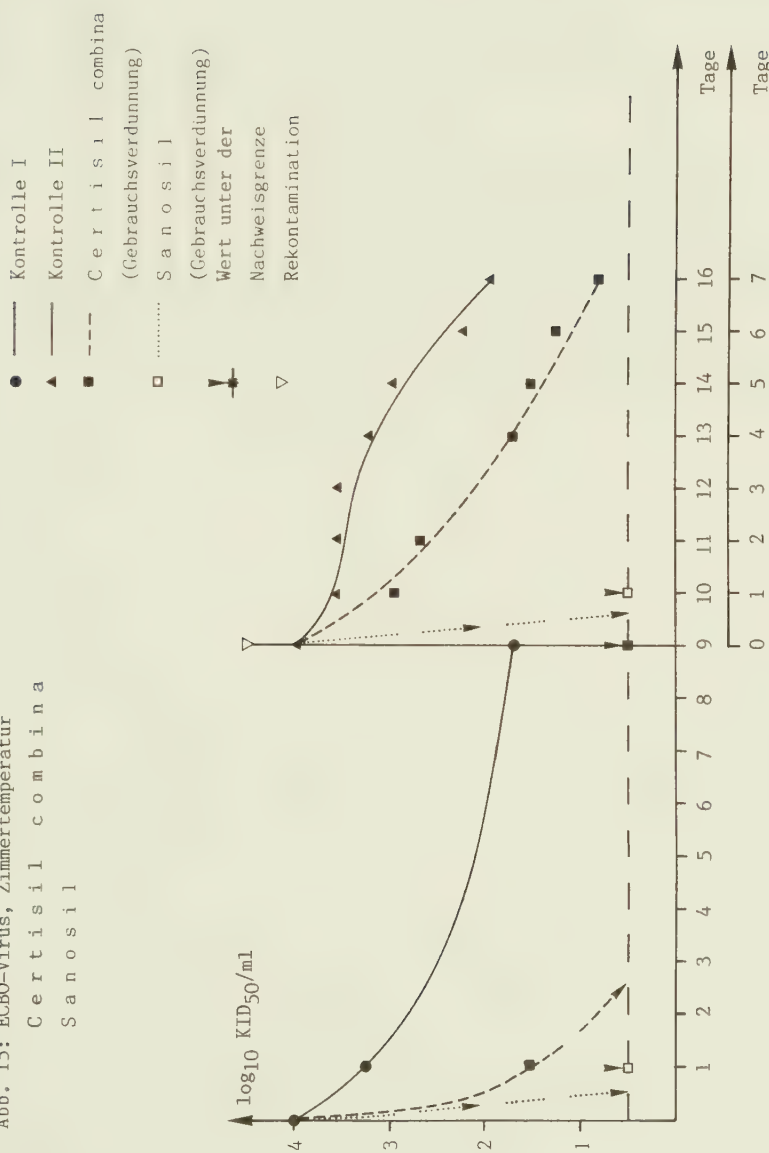
An diesem hüllenlosen Testvirus, gegenüber Silberionen allein markant empfindlich und in zwei bis vier Tagen inaktiviert, wurden mit S a - n o s i l sehr gute, mit C e r t i s i l c o m b i n a keine verbesserten Ergebnisse erhalten.

Die Raumtemperatur betrug $21 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Der Versuchsablauf ist in der Abb. 15 dargestellt.

Die zusätzliche Wasserstoffperoxid-Wirkung von S a n o s i l führte zur kompletten Virusinaktivierung innerhalb des ersten Versuchstages, auch neun Tage später nach Rekontamination. In Wasser mit C e r t i - s i l c o m b i n a dagegen war kein besserer Effekt nachweisbar, als er bereits mit den reinen Silberkomplexsalzen erzielt werden konnte.

Abb. 15: ECBO-Virus, Zimmertemperatur
Certsil combina
Sanosil

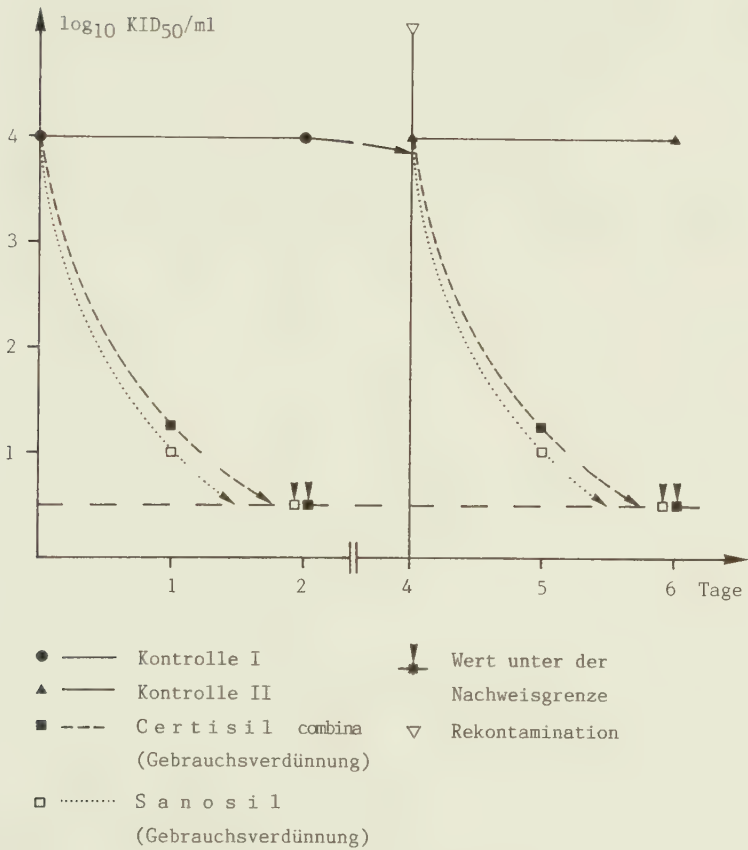


Vaccinia-Virus

Die Ergebnisse der Prüfung dieses Orthopockenvirus in Wasser gegen S a n o s i l und C e r t i s i l c o m b i n a in den jeweiligen Gebrauchsverdünnungen bei Raumtemperatur ($21 \pm 2^\circ\text{C}$) enthält die Abb. 16.

Im Vergleich zur sehr effektiven Inaktivierung des Vaccinia-Virus durch die reinen Silberkomplexsalze (vergl. 3.2.3. Abb. 7 und 8) war keine verbesserte Wirkung erkennbar. Im Verlauf der vollständigen Eliminierung der Infektiosität im Wasser innerhalb von zwei Tagen traten keine signifikanten Unterschiede auf. Damit konnte auch ein zusätzlicher antiviraler Effekt durch die Zweitkomponenten der Kombinationspräparate nicht ermittelt werden.

Abb. 16: Vaccinia-Virus, Zimmertemperatur
Certisil combina
Sanosil



Pseudowut (Aujeszky)-Virus

Dieses wegen seiner natürlichen Wasserlabilität nur bei 10°C Reaktionstemperatur geprüfte Virus hatte sich gegen reine Silberionen als deutlich empfindlich erwiesen und hielt sich dann nur weniger als drei Tage im Wasser infektiös (vergl. 3.2.3. Abb. 10).

Die Ergebnisse enthält Abb. 17.

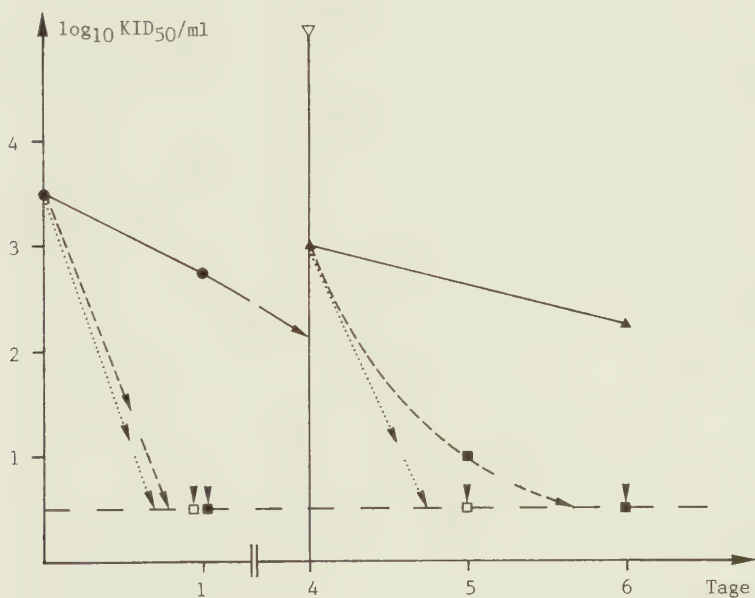
Die beiden Kombinationspräparate S a n o s i l und C e r t i - s i l c o m b i n a wirkten gegenüber den reinen Silberkomplexsalzen deutlich effektiver und inaktivierten das Herpes-Virus am ersten Tag. Vier Tage später, nach Rekontamination, war die S a - n o s i l - Wirkung noch gleich gut, die von C e r t i s i l c o m b i n a nur geringfügig schwächer.

Bei diesem als äußerst labil bekannten Virus ist eine additive bzw. ergänzende Wirksamkeit von Silberionen und oxidativen Komponenten der Präparate auf Grund der Ergebnisse anzunehmen.

Abb. 17: Aujeszky-Virus, 10° C

Certisil combina

Sanosil



● — Kontrolle I

▲ — Kontrolle II

■ --- Certisil combina
(Gebrauchsverdünnung)

□ Sanosil
(Gebrauchsverdünnung)

▼ Wert unter der
Nachweisgrenze

▽ Rekontamination

4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Auf bakterielle Wasserkontaminanten wirken reine Silberkomplexsalze bakterizid oder zumindest bakteriostatisch. Auf Grund dieses nachweisbaren mikrobiziden Effektes wurden sie als Zusätze zu Trinkwasservorräten verwendet (BRAUNE et al., 1957). Demgegenüber liegen über ähnliche Effekte auf Viren, die Trinkwasser unter ungünstigen Bedingungen ebenfalls kontaminieren können, keine zuverlässigen verwertbaren Erkenntnisse vor.

In eigenen Untersuchungen an fünf Virusarten unterschiedlicher Größe, Struktur und Umweltstabilität, in mäßigen Konzentrationen suspendiert in Münchener Trinkwasser, hatten zwei für den Trinkwasserzusatz zugelassene Silberkomplexsalz-Präparate insgesamt nur einen geringen Einfluß auf die Infektiosität der Viren. Die zwei deutschen Handelspräparate *Micropur* und *Certisil* ließen gegenüber dem Newcastle Disease-Virus, einem Parainfluenzavirus, keinen eindeutigen Effekt erkennen, der den natürlichen progressiven Infektiositätsabfall des Virus im Wasser beschleunigt. Mäßig bis deutlich rascher verlief die Inaktivierung in Wasser bei Anwesenheit der Silberkomplexsalze im Falle eines Influenza A-Virus, einem Orthomyxovirus, und des Aujeszky-Virus, einem Vertreter der Herpes-Viren. Diese beiden Virusarten bleiben aber an und für sich in Wasser von 10 bis 20°C nur wenige Tage infektiös. Deutlich und effektiv angegriffen wurden dagegen zwei relativ stabile Testviren, das ECBO-Virus als boviner Enterovirus, sowie vor allem das Vaccinia-Virus als Pocken-Vertreter. Wasser mit dem einheitlich angesetzten Virusgehalt von etwa $10^{4,0}$ infektiösen Einheiten pro ml, der bei diesen zwei Virusarten bei Raumtemperatur innerhalb einer Woche nur geringe Verluste aufweist, verlor seine Infektiosität in zwei bis drei bzw. ein bis zwei Tagen. Dieser Effekt war auch nach mehreren Tagen noch unvermindert nachweisbar.

Trotz der signifikanten bis starken antiviralen Wirkung von in Wasser eingebrachten Silberionen, wie sie sich bei vier der fünf in die Prüfung einbezogenen Testviren nachweisen ließ, darf von einem viruziden Effekt, wie er bei Wirkstoffen der Desinfektion verlangt wird, in keinem Fall gesprochen werden. Der Einfluß ist vielmehr als mehr oder we-

niger destabilisierend oder labilisierend zu bezeichnen.

Die eigenen Ergebnisse lassen sich nur teilweise mit bisher vorliegenden Einzelbefunden in Einklang bringen. LIPPELT (1957) beschrieb eine ausgesprochen hohe Silberempfindlichkeit verschiedener Influenza A- und B- sowie von Mumps-Virusstämmen, die zur Parainfluenzagruppe gehören. Seine Feststellungen orientieren sich jedoch im wesentlichen an der hämagglutinierenden Aktivität seiner Testviren. Die eigenen Erkenntnisse dagegen zeigten deutlich den mäßigen Einfluß der Silberionen auf die Infektiosität von Influenza A-Virus. Das von uns geprüfte Newcastle Disease-Virus, ein Parainfluenzavertreter wie das Mumps-Virus, erwies sich sogar als weitgehend unempfindlich gegen Silberionen.

Die von YAGO et. al (1978) beschriebene, offensichtlich nur mäßige Silberempfindlichkeit eines murinen Corona-Virus, dem Mäusehepatitis-Virus, das allgemein als wasserlabil einzustufen ist, harmoniert mit dem selbst festgestellten Verhalten solcher Viren.

Die hohe Silberempfindlichkeit von Bakteriophagen (FOX und MODAK, 1974; RICHARDS, 1981) kann der Reaktion der hier getesteten Viren nicht gegenüber gestellt werden, da Phagen neben einer abweichenden Morphologie auch einen von animalen Viren völlig verschiedenen Infektionsmechanismus aufweisen (ROLLE und MAYR, 1984).

Eine positive Beeinflussung der geringen bis mäßigen Wirkung von Silberionen in ihrer Gebrauchskonzentration auf in Wasser suspendierte Viren durch eine 10- und 100-fach höhere Dosierung der Präparate gelang in keinem nennenswerten Umfang. Mitunter schienen höhere Silberkonzentrationen sogar schlechter zu wirken, wie es am Beispiel des Präparates *M i c r o p u r* im Versuch mit dem Influenza A-Virus deutlich wurde (vergl. 3.2.3., Abb. 12).

Eine temperaturabhängige Wirkungssteigerung der Silberionen auf die Testviren konnte bei einer Temperaturdifferenz von circa 10°C nicht nachgewiesen werden. Deutlich verbesserte Wirksamkeiten, wie sie WALLHÄUSSER und SCHMIDT (1967) an Bakterien feststellten, dürften für Viren auch bei größeren Temperaturunterschieden nicht zu erwarten sein.

Am Beispiel des silberlabilen Vaccinia-Virus wurde auch Wasser mit

hohem Virusgehalt vergleichend bezüglich der Wirkungs-Dynamik der Silberkomplexsalze überprüft. Die vergleichsweise gute Wirkung auf dieses Orthopockenvirus war auch bei einem relativ hohen Virusgehalt von $10^{6,0}$ KID₅₀/ml Trinkwasser eindeutig. Dieser Befund kann als Anhaltspunkt dafür gewertet werden, daß eine antivirale Wirkung von Silberionen in ihrer wesentlichen Dynamik von der Viruskonzentration im Wasser kaum beeinflußt wird.

Nennenswerte Unterschiede zwischen den zwei Präparaten *Micro-pur* und *Certisil* lassen sich aufgrund der Ergebnisse nicht konstatieren, obwohl im Fall des ECBO-, Vaccinia- und Influenza A-Virus eine geringgradig stärkere destabilisierende Wirkung des Präparates *Certisil* möglich erschien.

Über den Wirkungsmechanismus, der dem destabilisierenden Einfluß von Silberionen auf einige Virusarten zugrunde liegt, läßt sich anhand der eigenen Versuche und Ergebnisse keine Aussage machen. Die eigenen sowie von LIPPELT (1957) erzielten Wirkungen am Influenza A-Virus geben Anlaß zu der Vermutung, daß Oberflächenvalenzen der Viren, die z.B. für die Haftung an empfänglichen Zellen und die folgende Zellinfektion maßgeblich sind, durch Silber in ihrer Funktion beeinträchtigt werden. Die von WORATZ und THOFERN (1955) beschriebene Blockade verschiedener bakterieller Enzyme könnte auch bei Viren, speziell beim Vaccinia-Virus, die vergleichsweise und ausnehmend starke Silberempfindlichkeit zumindest teilweise erklären. Neben einem von "echten" Viren sehr abweichenden komplexen Aufbau des Pockenvirus besitzt es atypisch für Viren viele viruseigene Enzyme. Sie sind verantwortlich für einen partiell autonomen Infektions- und Vermehrungszyklus der Pockenviren in der Zelle (ROLLE und MAYR, 1984). Eine signifikante Mindererung der Infektiosität des unbehüllten, zu den kleinsten Viren zählenden ECBO-Virus, macht andererseits deutlich, daß die Angriffspunkte für Silberionen nicht ausschließlich in den empfindlichen, für die Infektiosität essentiellen äußeren Hüllen bzw. dort lokalisierten Enzymaktivitäten zu suchen sind. Gegen eine Störung der viralen, für die Zellinfektion und somit Infektiosität kompetenten äußeren Enzymaktivitäten spricht auch die weitgehende Silberionen-Unempfindlichkeit des Newcastle Disease-Virus in den eigenen Testen, eines Virus, das

solche essentiellen Glycoproteide in seiner äußeren Hülle trägt.

Die zwei Silbersalz-Kombinationspräparate, *Certisil combina* und *Sanosil*, wurden in eigenen Versuchen sowohl in Bezug auf ihre antivirale "Sofort"-Wirkungskomponente als auch auf die durch die Silberkomponente abgedeckte Langzeitwirkung hin untersucht.

Certisil combina enthält neben Silberkomplexsalz eine Chlor-abspaltende Verbindung. Im Vergleich zu den Reaktionen mit reinen Silberkomplexsalzen wurde keine bessere Wirkung gegenüber den in die Prüfung einbezogenen Virusarten gemessen, ausgenommen beim extrem labilen Herpes-Virus. Auch die Ergebnisse der jeweils in der zweiten Versuchsphase überprüften Langzeitwirkung waren nahezu identisch mit denen der ersten Versuchsphase. Eine schnellere durch Chlor verursachte Virusinaktivierung in Form einer echten viruziden Wirkung, wie sie durch Chlor bekannt ist, wurde somit nicht beobachtet. Da alle Virusarten nachgewiesenermaßen gegenüber vergleichsweise stärkeren Konzentrationen an freiem Chlor empfindlich sind (HORN, 1972; OTTIS, 1976; MAHNEL, 1983), muß gefolgert werden, daß mit der Gebrauchsdosierung dieses Präparates die für eine Desinfektion von Viren notwendige Chlorkonzentration im Wasser nicht erreicht wird. Da auch kein fördernder Einfluß auf die Reaktion zwischen reinen Silberionen und Viren erkennbar wurde, ergab diese Wirkstoffkombination mit Chlor keinen Vorteil gegenüber reinen Silberkomplexsalzen in Bezug auf antivirale Wirksamkeit.

Das Kombinationspräparat *Sanosil*, das neben dem Silberkomplexsalz Wasserstoffperoxid enthält und in Lösung Sauerstoff freisetzt, hatte eine breite, bemerkenswert gute inaktivierende Wirkung auf alle hier untersuchten Viren. In erster Linie ist die Inaktivierung des kaum silberempfindlichen Newcastle Disease-Virus innerhalb von zwei bis drei Tagen bemerkenswert, insbesondere da diese Wirkung über zwei Wochen in vollem Umfang nachweisbar blieb. Auch gegenüber den anderen drei überprüften Virusarten (Vaccinia-, Aujeszky- und ECBO-Virus) konnten mit diesem Präparat sehr gute Ergebnisse erzielt werden. Viren sind generell empfindlich gegenüber Oxidantien (MAHNEL, 1983). Im gegebenen Fall kann die Peroxid-Komponente in *Sanosil* allein für die Wirkung nicht verantwortlich sein, weil Wasserstoff-

peroxid erst in höherer, geschmacklich erkennbarer Dosierung im Wasser rasch viruzid wirken dürfte (MAHNEL, 1977). Es erscheint naheliegender, daß nicht der abgespaltene Sauerstoff allein effektiv ist, sondern ein ergänzender bzw. fördernder Effekt auf die Silberwirkung gegenüber Viren zustande kommt, wie ihn bereits SÜPFLE (1929) andeutete. Scheinbar ist diese Kombination zweier synergistisch wirkender Komponenten vorteilhaft.

Die gute, vornehmlich antibakterielle, keimhemmende Wirkung hat den Silberkomplexsalzen und Kombinationspräparaten Eingang in die Reihe der antimikrobiellen Trinkwasserzusätze verschafft. Ob ihr Zusatz zu Trinkwasserreservoirien zur Absicherung gegen virale Kontaminationen sinnvoll ist, muß von verschiedenen Seiten betrachtet werden. Wasserkontaminationen viraler Art werden im Gegensatz zu bakteriellen Trinkwasserunreinigungen in ihrer Bedeutung aus verschiedenen Gründen immer zweitrangig sein.

Menschliche Viren werden fast ausschließlich mit Sekreten und Exkreten von Virusträgern ausgeschieden. Hierfür kämen praktisch nur enterale und respiratorische Virusarten wie Entero-, Reo-, Rota-, Adeno-, Corona-, Parainfluenza- und Influenzaviren in Betracht, kaum jedoch Herpes- oder Pockenviren. Unter natürlichen Gegebenheiten ist eine sekundäre, virale Kontamination eines Trinkwasservorrates nur über die Verunreinigung des Wassers mit virushaltigem Staub und Schmutz bzw. über direkten menschlichen Kontakt denkbar. Der große Verdünnungseffekt sowie die mangelnde Fähigkeit der Viren sich im Wasser ohne die Anwesenheit empfänglicher Zellen zu vermehren wird fast immer zu einem verschwindend geringen Virusgehalt in verunreinigtem Wasser führen. Allerdings muß hierbei berücksichtigt werden, daß einige der oben genannten Virusarten, wie z.B. Entero-, Reo- oder Adenoviren bei Temperaturen unter 20°C im Wasser zum Teil mehrere Wochen bis Monate infektiös bleiben können (MAHNEL et al., 1977). Da die meisten Virusarten, mit denen zu rechnen ist, nur fakultativ pathogen sind bzw. die Mindestinfektionsdosis über so schwach kontagiöses Trinkwasser nur selten erreicht werden wird, ist die Möglichkeit einer Erkrankung nur äußerst gering.

Werden im Umgang mit qualitativ einwandfreiem Trinkwasser optimale hygienische Bedingungen eingehalten, kann aus oben genannten Gründen

auf viruzid wirkende Trinkwasserzusätze verzichtet werden.

Werden keimhemmende Wasserzusätze in Form von Silberpräparaten verwendet, dann ist neben der bakteriziden Wirkung auch ein stabilitätsmindernder Einfluß auf die Mehrzahl der in Frage kommenden Virusarten zu erwarten. Die Gefahr einer Virusinfektion durch verunreinigtes Wasser ist deshalb bereits nach wenigen Tagen nicht mehr gegeben. Bisherige praktische Erfahrungen bestätigen die Richtigkeit dieser Folgerungen.

Ist die hygienische Ausgangssituation bedenklich, kann mit Hilfe der Silberpräparate der natürliche progressive Infektiositätsverlust kontaminierender Viren beschleunigt werden. Es empfiehlt sich hierbei der prophylaktische Einsatz von Silberkomplexsalz-Kombinationspräparaten, wie z.B. S a n o s i l , bei dem die Silberwirkung durch die Sauerstoff-abspaltende Komponente deutlich unterstützt wird. Zu berücksichtigen ist, daß es virusbedingte Empfindlichkeitsunterschiede gegenüber Silber gibt, und daß mit einer Sofortentkeimung im Sinne einer viruziden Wirkung nicht gerechnet werden kann. Einer der Vorteile bei der Benutzung von antiviralen Wasserzusätzen auf Silberbasis ist sicher auch in ihrer Langzeitwirkung zu sehen, die neben einer bequemen Anwendung auch einen zusätzlichen Sicherheitsfaktor beinhaltet.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die Handelspräparate *Micropur* und *Certisil*, geeignet zur Entkeimung und Konservierung von Trink- und Brauchwasser, enthalten mikrobizides komplex gebundenes Silber. Gegenüber mäßigen Konzentrationen von Newcastle Disease-, Vaccinia-, Influenza A-, Ajueszky- und ECBO-Viren wurde die virusinaktivierende Wirkung dieser Silberkomplexsalze in Trinkwasser geprüft.

In der Gebrauchskonzentration, sowie 10- und 100-fach stärker konzentriert zeigten die Silberkomplexsalze im Vergleich zur natürlichen Labilität der Viren im Trinkwasser einen mehr oder weniger destabilisierenden Einfluß auf die Infektiosität von fünf Testviren. Dieser Effekt kann mit einer viruziden Wirkung im echten Sinne nicht verglichen werden; er war im für Trinkwasser üblichen Bereich nicht temperaturabhängig. Bei Vaccinia- und ECBO-Viren war der destabilisierende Einfluß stark bis deutlich ausgeprägt, mäßig gegenüber Influenza A- und Ajueszky-Viren und nicht signifikant gegenüber dem Newcastle Disease-Virus.

Wasserzusätze in Form reiner Silberkomplexsalze erscheinen zur raschen Inaktivierung kontaminierender Viren im Trinkwasser nicht als geeignet. Sie beschleunigen aber überwiegend den natürlichen, mehr oder weniger schnellen Verlust der Infektiosität von Viren in Wasser.

Eine unterschiedliche Wirkung auf die untersuchten Viren ließ sich bei zwei Silber-Kombinationspräparaten, *Certisil combina* und *Sanosil*, nachweisen. Sie enthalten neben komplex gebundenem Silber eine sofortwirkende mikrobizide Komponente. Während die Chlor-abspaltende Komponente in *Certisil combina* gegenüber dem reinen Silberpräparat keine wesentliche Verbesserung oder Beschleunigung der destabilisierenden Wirkung auf Viren bewirkte, hatte *Sanosil* mit seiner Wasserstoffperoxid-Komponente einen vergleichsweise guten und anhaltenden inaktivierenden Einfluß auf die geprüften Viren. Sie wurden innerhalb eines Tages um überwiegend 99,9 % dezimiert.

Nur in Situationen, in denen offensichtlich oder wahrscheinlich eine virale Kontamination in Wasservorräten vorliegt, erscheint der Zusatz eines solchen Silbersalz-Kombinationspräparates mit Sauerstoff-abspaltender Komponente sinnvoll und angezeigt.

SUMMARY

Investigations on the Effect of Silver Compounds on Viruses in Water

The commercially available preparations *M i c r o p u r* and *C e r - t i s i l* contain microbicidally active, complex-bound silver. They are suitable for sterilisation and conservation of drinking and surface water. The virus inactivating effect of these silver salts was investigated employing moderate concentrations of Newcastle disease virus, vaccinia virus, influenza A virus, Aujeszky disease virus and ECBO virus.

Using the recommended concentration the silver salts exhibited a more or less destabilizing effect on the infectiosity of the five tested viruses when compared with the natural inactivation of viruses in drinking water. This effect cannot be compared with a virucidal action per se; for drinking water it was not dependent upon temperature within an usual range. The destabilizing effect was most pronounced for vaccinia virus and ECBO viruses, moderate for influenza A virus and Aujeszky disease virus and not significant against Newcastle disease virus.

Water additives in form of pure silver complex salts do not seem to be suitable for rapid inactivation of contaminating viruses in drinking water.

A different action on the investigated viruses could be demonstrated with the two combined silver salt preparations, *C e r t i s i l c o m b i n a* and *S a n o s i l*. In addition to complexed silver they contain an instantly acting microbicidal component. Whereas the chlorine-releasing component in *C e r t i s i l c o m b i n a* did not improve or accelerate the destabilizing action on viruses when compared to the original silver preparation, *S a n o s i l* with its hydrogen peroxide component showed a comparatively good and continuous inactivating effect on the investigated viruses. They were 99,9% inactivated within one day.

The addition of complexed silver salts containing an oxygen-releasing component is only feasible and recommended in situations in which a viral contamination in water reservoirs is suspected or has been detected.

6. LITERATURVERZEICHNIS

- BÄR, F.
1970
Zur Toxikologie der Wasserdesinfektionsmittel.
SchrReihe Ver. Wass.-Boden-Lufthyg. Berlin-Dahlem,
H. 31, Stuttgart 49 - 56;
in Meinck, F. " Die Desinfektion von Trinkwasser"
3. Vortragsreihe mit Erfahrungsaustausch über spezielle Fragen der Wassertechnologie am 14. u. 15. Nov. 1968 im Institut für Wasser, Boden und Lufthygiene.
- BEGER, H.
1947
Kritische Betrachtungen über das Katadyn-Verfahren mit besonderer Berücksichtigung seiner Anwendung in der Getränke-Industrie.
Pharmazie 2, 359;
zitiert in Wallhäußer u. Schmidt, 1967.
- v. BEHRING, E.
1887
Der antiseptische Werth der Silberlösungen und Behandlung von Milzbrand mit Silberlösungen.
Dtsch. med. Wschr., 805 - 807; 830 - 834;
zitiert in Horn et al., 1972.
- v. BEHRING, E.
1890
Über Desinfektion, Desinfektionsmittel und Desinfektionsmethoden.
Z. Hyg. Infekt.-Kr. 9, 394 - 527 (430 - 435);
zitiert in Horn et al., 1972.
- BRAUNE, J.F.
1953
Orientierende Untersuchungen mit einem Sterilit-VersuchsfILTER zur Trinkwasserentkeimung.
Gesdh. Ing. 74, 12 - 15;
zitiert in Schwotzer, 1972.
- BRAUNE, J.F.
1954
Orientierende Untersuchungen mit einem Sterilit-Ver-suchsfILTER zur Trinkwasserentkeimung, II. Mitteilung.
Gesdh. Ing. 75, 15 - 20;
zitiert in Schwotzer, 1972.

- BRAUNE, J.F. Die Trinkwassersilberung. Grundlagen und Ergebnisse.
KRUSCHE, F. R. Oldenbourg-Verlag, München .
KURTH, C.
LIPPELT, H.
WORATZ, H.
THOFERN, E.
1957
- BREKENFELD, F. Oligodynamische Silberwirkung in Heilseren.
1938 Zbl. Bakt., I. Abt. Ref. 129 , 91 - 92;
- BRINGMANN, G. Elektronenoptische Befunde zur Wirkung von Chlor,
1953 Brom, Jod, Kupfer, Silber und Wasserstoffsupper-
oxyd auf E. coli .
Z. Hyg. Infekt.-Kr. 138, 155;
zitiert in Braune et al., 1957.
- BRUNNER, K. Beitrag zur oligodynamischen Desinfektion von Was-
1950 ser, besonders Badewasser. Das Photonic-Verfahren.
Dissertation ETH., Zürich;
zitiert in Schwotzer, 1972 .
- BUDDECKE, E. Grundriß der Biochemie .
1977 5. Auflage , Verlag W. de Gruyter Berlin, New York.
- CARLSON, S. Untersuchungen über Virusinaktivierung durch Chlor
HÄSSELBARTH, U. bei der Wasserdesinfektion .
SOHN, F.W. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 162, 320 - 329.
1976
- CHRISTEN, H.R. Chemie .
1974 9. Auflage, Verlag Sauerländer Aarau und Verlag
Diesterweg Salle, Frankfurt am Main.

- CREDE, B. Silber und Silbersalze als Antiseptika.
1896 Verlag F.C.W. Vogel, Leipzig;
zitiert in Horn et al., 1972 .
- CREDE, C.S.F. Die Verhütung der Augenentzündung der Neugeborenen .
1884 Verlag A. Hirschwald, Berlin;
zitiert in Horn et al., 1972.
- EBERT, B.P. Zur Frage der oligodynamischen Wirkung des ver-
SHAPIRO, A.J. silberten Sandes auf die Bakteriophagen.
1936 Arch. Sci. Biol. 43, 303;
(Russischer Text, Zit. Chem. Zbl. 1938 II 1, 538);
zitiert in Braune et al., 1957.
- EGGENSPERGER, H. Desinfektionswirkstoffe und ihre Wirkungsmechanismen .
1973 Deutsche Apotheker-Zeitung 113, 785 - 791.
- v. EULER, H. Über Giftwirkungen bei Enzymreaktionen. I. Inakti-
SVANBERG, O. vierung der Saccharase durch Schwermetalle.
1920 Fermentforschung 3, 330;
zitiert in Braune et al., 1957.
- FORTH, W. Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie.
HENSCHLER, D. 3. Auflage,
RUMMEL, W. Bibliographisches Institut, Mannheim, Wien, Zürich,
1980 B.J.-Wissenschaftsverlag.
- FOX, C.L. Jr Mechanisms of silver sulphadiazine action on
MODAK, S.M. burn wound infections.
1974 Antimicrob. Ag. Chemother. 5, 528 - 588.
- FOX, C.L. Jr Control of Pseudomonas infection in burns by
RAPPOLE, B.W. silver sulphadiazine.
STANFORD, W. Surg. Gyn. Obst. 128, 1021 - 1026.
1969

- GOTTSCHALK, H. Eine einfache Standardmethode für oligodynamische
1931 Versuche mit Silber.
Zbl. Bakt. , I. Abt. Orig. 122, 400.
- GRIGOREVA, L.V. Wirkung von Silber auf Coxsackie-Viren und Bak-
1967 teriophagen im Wasser.
Gig. Naselennykh Mest, 62 - 66.
- GUSSO, A. Referat (Italienischer Text) .
CIKONI, M. Zbl. Bakt. , I. Abt. Ref. 141, 381;
1942 zitiert in Braune et al., 1957.
- GUTSCHMIDT, H. Über oligodynamische Trinkwasserbereitung mittels
1935 verschiedener Katadynverfahren.
Z. Hyg. Infekt.-Kr. 116 , 421 - 432;
zitiert in Schwotzer, 1972.
- HERZBERG, K. Die Beteiligung des Sauerstoffs bei der oligo-
1923 dynamischen Metallwirkung.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 90, 113;
zitiert in Braune et al., 1957.
- HEY, R. "Micropur", ein neuzeitliches Mittel zur Trink-
1947 wasserentkeimung.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 152, 327 - 333.
- HÖLL, K. Wasser.
1979 6. Auflage , Verlag W. de Gruyter, Berlin, New York.
- HOFFMANN, S. Bakteriologische und hygienische Erfahrungen bei
1938 Desinfektionsversuchen vermittels des Elektro-
katadyn-Verfahrens .
Arch. Hyg. 120, 147;
zitiert in Schwotzer, 1972.

- HORN, H. Handbuch der Desinfektion und Sterilisation.
PRIVORA, M. Band I : Grundlagen der Desinfektion.
WEUFFEN, W. VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin.
1972
- HORZINEK, M. Kompendium der allgemeinen Virologie.
1975 Paul Parey Verlag, Berlin, Hamburg.
- IKEDA, S. Beiträge zum Studium der oligodynamischen Silber-
1936 wirkung mit besonderer Berücksichtigung der Ha-
logen-Silberverbindungen.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 136, 269;
zitiert in Braune et al., 1957.
- KÄRBER, G. Beitrag zur kollektiven Behandlung pharmakolo-
1931 gischer Reihenversuche.
Arch. exp. Path. Pharmac. 162, 480.
- KATSUUMI, J. Basic studies of $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ as a Root Canal Disinfectant.
1978 Shigaku 65, 934 - 950, Tokyo.
- KELLY, S.M. The effect of chlorine in water on enteric viruses.
SANDERSON, W.W. Am. J. Publ. Hlth. 48, 1323 - 1334.
1958
- KELLY, S.M. The effect of chlorine in water on enteric viru-
SANDERSON, W.W. ses. II. The effect of combined chlorine on Polio-
1960 myelitis and Coxsackievirus.
Am. J. Publ. Hlth. 50, 1 - 11.
- KONRICH, F. Über die oligodynamische Trinkwassersilberung
1929 vermitteltst des Katadyn-Verfahrens.
Gesdh. Ing. 52, 804;
zitiert in Braune et al., 1957.

- KRAFT, W. Katzenkrankheiten. Klinik und Therapie.
DÜRR, U.M. Verlag M. & H. Schaper, Hannover.
1978
- KRAUSE, G.A. Neue Wege zur Wassersterilisation.
1928 Bergmann, München;
zitiert in Schwotzer, 1972.
- KRUSE, W. Die wissenschaftlichen Grundlagen des neuen Systems
FISCHER, M. der silbernen Antisepsis und Chlordesinfektion.
1935 Arch. Hyg. 113, 46 - 63;
zitiert in Schwotzer, 1972.
- KRUSE, W. Das Cumasina-Verfahren zur Entkeimung von Trink-,
FISCHER, M. Bade- und Nutzwasser mit Silber im Großbetrieb.
1936 Gesdh. Ing. 59, 312 - 314;
zitiert in Schwotzer, 1972.
- KRUSE, C.W. The enhancement of viral inactivation by halogens.
OLIVIERI, V.P. Wat. Sewage Wks. 118, 187.
KAWATA, K.
1971
- LAUSCH, G. Über oligodynamische Silberwirkung im Heilserum.
1938 Z. Hyg. Infekt.-Kr. 120, 350 - 389;
zitiert in Wallhäußer und Schmidt, 1967.
- LEITNER, N. Zur Phänomenologie der oligodynamischen Wirkung.
1929 Die Salzhemmung.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 112, 368;
zitiert in Braune et al., 1957.

- LEITNER, N.
1930
Der Einfluß von Elektrolyten auf die bakterizide
Wirkung von Kupfer- und Silbersalzen.
Biochem. Z. 221, 42;
zitiert in Braune et al., 1957.
- LENDLE, L.
WEIGMANN, R.
1953
in Häupl, K., Meyer, W., Schuchhardt, K.:
Die Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde.
München, Berlin;
zitiert in Braune et al., 1957.
- LIESE, W.
MENDEL, B.
1923
Die Bedeutung der Bakterienoberfläche im chemischen
Desinfektionsversuch. Zugleich ein Vorschlag zur
Prüfung chemischer Desinfektionsmittel.
Z. Hyg. Infekt.-Kr. 100, 454;
zitiert in Braune et al., 1957.
- LIPPELT, H.
1957
Oligodynamische Silberwirkung auf Viren.
in: Braune, J.F. et al., Die Trinkwassersilberung.
R. Oldenbourg-Verlag, München.
- MADIN, S.H.
ANDRIESE, P.C.
DARBY, N.B.
1957
The in vitro cultivation of tissues of domestic
and laboratory animals.
Am. J. Vet. Res. 18, 932.
- MAHNEL, H.
1977
Untersuchungen zur Virusinaktivierung in Trink-
und Oberflächenwasser. Ein Beitrag zur Dekonta-
mination von trinkbaren Wässern mit feldtauglichen
Methoden .
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 165, 527 - 538.
- MAHNEL, H.
OTTIS, K
HERLYN, M.
1977
Stabilität von neun Virusarten unterschiedlicher
Genera in Trink- und Oberflächenwasser .
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 164, 64 - 84.

- MAHNEL, H. Desinfektion von Viren.
1983 Zbl. Vet. Med. B 30, 81 - 96.
- MAYR, A. Vergleichende Studien über die Züchtung von Ge-
KALCHER, K. flügelpocken in der Zellkultur.
1960 Arch. ges. Virusforsch. 10, 72.
- MESSERSCHMIDT, T. Das Desinfektionsvermögen der Metalle und seine
1916 Ursachen mit besonderer Berücksichtigung der
Wirkung des Kupfers.
Z. Hyg. Infekt.-Kr. 82, 289;
zitiert in Braune et al., 1957.
- MILLER, W.D. Antiseptische Zahnfüllungsmittel.
1890 Verh. dtsch. odontol. Ges. 34;
zitiert in Horn et al., 1972.
- MORRIS, C.J. Chlorination and disinfection.
1971 J. Am. Wat. Wks. Ass. 63, 769 - 774.
- MÜLLER, G. Die Desinfektion von Trinkwasser durch UV-Bestrahlung.
1974 Veröffentlichung der Hanau-Quarz-Lampen GmbH;
zitiert bei Ottis, 1976.
- MÜLLER, R. Med. Mikrobiologie.
1950 4. Auflage, Urban & Schwarzenberg, München, Berlin.
- v. NÄGELI, C. Über die oligodynamischen Erscheinungen an
1893 lebenden Zellen.
Neue Denkschr. Allg. Schweiz. Ges. Naturwiss. 33 I ;
zitiert in Schwotzer, 1972.

- NETSSER, M. Die oligodynamische Metallwirkung in Theorie
EICHBAUM, F. und Praxis .
1932 Erg. Hyg. Bakt. 13, 170;
zitiert in Braune et al., 1957 .
- NIEMAND, H.G. Praktikum der Hundeklinik.
1980 4. Auflage ,Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg.
- OBERZILL, W. Zur Frage der oligodynamischen Silberwirkung und
1956 ihrer Anwendung auf die Entkeimung von Trink- und
Mineralwasser .
Sci. pharm. 24, 171 - 193;
zitiert in Schwotzer, 1972.
- OETTEL, W. Reiz- und Hemmungswirkungen von Silber und Form-
1935 aldehyd auf das Bakterienwachstum, nebst Beobach-
tungen über Wachstumskurven überhaupt .
Arch. Hyg. 113, 71;
zitiert in Braune et al., 1957 .
- OTTIS, K. Vergleichende Untersuchungen über die Tenazität
1976 von Viren in Trink- und Oberflächenwasser.
Vet. Med. Diss., München.
- REBER, H. Berichte II. Internat. Coll. Desinfektion, Hamburg;
1972 zitiert in Mahnel, 1983.
- RENN, C.E. Bericht über das 603-K-Filtrat.
CHESNEY, W.E. John Hopkins Univ., Baltimore;
1952 zitiert in Schwotzer, 1972 .
- RICHARDS, R.M.E. Antimicrobial action of silver nitrate .
1981 Microbios 31, 83 - 91.

- ROLLE, M. Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und
MAYR, A. Seuchenlehre.
1984 5. Auflage, Ferdinand Enke Verlag Stuttgart.
- RUETE, A.E. Über die oligodynamische Wirkung unseres Silber-
1925 pulvers.
Klin. Wschr., 2499 - 2500;
zitiert in Horn et al., 1972.
- SAXL, P. Über die Verwendung der keimtötenden Fernwirkung
1917 a des Silbers für die Trinkwassersterilisation.
Wiener Klin. Wschr. 31, 965;
zitiert in Braune et al., 1957.
- SAXL, P. Die oligodynamische Wirkung der Metalle und Me-
1917 b tallsalze.
Wiener Klin. Wschr. 31, 1426;
zitiert in Braune et al., 1957.
- SCHEBOLDSJEW A Photo- und oligodynamische Wirkung auf filtrier-
SCHUBLADSE bares Virus (Russischer Text).
1936 Z. Mikrobiol. 18, 466 (dtsh. Zusammenfas. 471);
zitiert in Braune et al., 1957.
- SCHLIESSER, T. Desinfektion in Tierhaltung, Fleisch- und Milch-
STRAUCH, D. wirtschaft.
1981 Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.
- SCHÖTTLER, W.H.A. Über eine neue, ungiftige Methode der Serumkonser-
1947 vierung.
Pharmazie 2, 448 - 451;
zitiert in Schwotzer, 1972.

- SCHWEIZER, P.
1922 Untersuchungen über die Natur der filtrierbaren
Vira und die Resistenz des Hühnerpestvirus gegen
zellständige Einflüsse (Gerbstoffe, Oligodynamie).
Arch. Hyg. 90, 155;
zitiert in Schwotzer, 1972.
- SCHWITZER, R.
1983 Kontinuierliche Entkeimung des Wassers der zahn-
ärztlichen Behandlungseinheit.
Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 93, 163 - 172.
- SCHWOTZER, H.
1972 Oligodynamie.
in Horn et al., Handbuch der Desinfektion und Steri-
lisation .Band I: Grundlagen der Desinfektion.
VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin.
- SPAERMAN, C.
1931 Zitiert nach Kärber, G., Beitrag zur kollektiven
Behandlung pharmakologischer Reihenversuche.
Arch. exp. Path. Pharmac. 162, 480.
- STELLMACHER, W.
SCHOLZ, K.
PREISSLER, K.
1974 Desinfektion.
2. Auflage,
VEB Gustav Fischer Verlag Jena.
- SÜPFLE, K.
1922 Die bisherigen Ergebnisse der Forschung über die
sog. oligodynamischen Wirkungen von Metallen auf
Bakterien.
Zbl. ges. Hyg. I, 129;
zitiert in Braune et al., 1957.
- SÜPFLE, K.
1929 Über die Beteiligung des Sauerstoffs bei der
oligodynamischen Metallwirkung.
Klin. Wschr. 8, 1899;
zitiert in Braune et al., 1957.

- SUMNER, J.B. Chemistry and Methods of Enzymes .
SOMERS, G.F. Academic Press, New York;
1953 zitiert in Braune et al., 1957.
- VIGNATI, J. Beitrag zur Kenntnis der Desinfektionswirkung der
SCHNABEL, P. Metallsalze. II. Der Desinfektionsvorgang.
1928 Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 109, 475;
zitiert in Braune et al., 1957.
- WACHTER, H. Chemie für Mediziner.
HAUSEN, A. 2. Auflage,
1977 W. de Gruyter Berlin, New York.
- WALLHÄUSSER, K.H. Sterilisation - Desinfektion - Konservierung..
1978 2. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- WALLHÄUSSER, K.H. Sterilisation, Desinfektion, Konservierung, Che-
SCHMIDT, H. motherapie. Verfahren, Wirkstoffe, Prüfungsmethoden.
1967 Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- WALWATSCHOW, N.J. Die Desinfektion verschiedener Umweltobjekte
FRIDMAN, A.A. mit Wasserstoffperoxid bei Virusgrippe.
BOLDASOW, W.K. Wo. Meg. Sch. 2, 44 - 46;
1967 zitiert in Horn et al., 1972.
- WEICHINGER, W. Die Wirkung blanker Metalle auf einige Fermentre-
1923 aktionen der Kuhmilch und ihre Beziehung zum
oligodynamischen Phänomen.
Z. Fermentforschung 7, 110 - 133;
zitiert in Horn et al., 1972.
- WOLLMANN, E.M. Action oligodynamique de l'argent sur les bac-
WOLLMANN, M. téries et les bacteriophages.
1931 C. r. Soc. Biol. Paris, 108, 111;
zitiert in Braune et al., 1957.

- WORATZ, H. Beitrag zum Wirkungsmechanismus der Oligodynamie.
THOFERN, E. Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 163, 538;
1955 zitiert in Braune et al., 1957.
- YAGO, A. Effects of silver carbon on eliminating mouse
SHIRASAKA, R. hepatitis virus in water.
AKAGAMI, N. Nihon Eiseigaku Zasshi Tokyo, 33, 647 - 652.
1978
- ZIMMERMANN, W. Oligodynamische Silberwirkung I. Über den Wir-
1952 a kungsmechanismus.
Z. Hyg. Infekt.-Kr. 135, 403 - 413.
- ZIMMERMANN, W. Oligodynamische Silberwirkung II. Erfahrungen
1952 b bei länger dauernder Anwendung zur Entseuchung
dörflicher Wassergewinnungsanlagen.
Z. Hyg. Infekt.-Kr. 135, 414 - 420.
- ZIPFEL, W. Lebensmittelrecht.
1983 C.H. Beck'sche Verlagsbuchhandlung, München;
Stand 1. November 1983.

LEBENS LAUF

Am 6. Januar 1959 wurde ich, Maren Schmidt, als zweites Kind des Dr. ing. Theodor Schmidt und seiner Ehefrau Sigrid, geborene Pollak, in Essen geboren.

Im August 1965 trat ich in die Grundschule, Schinkelschule, in Essen ein.

Vom August 1968 bis zum Juli 1976 besuchte ich das Mädchengymnasium Victoriaschule in Essen, und vom August 1976 bis Juni 1978 das Städtische Gymnasium Poststraße in Velbert. Am 9. Juni 1978 legte ich dort die Reifeprüfung ab.

Im November 1978 nahm ich das Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München auf. Dort schloß ich im Oktober 1983 mit dem dritten Teil des Staatsexamens ab und erhielt am 1. Dezember 1983 meine Approbation als Tierärztin.

Seit November 1983 arbeite ich als Doktorand am Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. mult. A. Mayr danke ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und für seine freundliche Hilfe.

Herrn Prof. Dr. H. Mahnel bin ich für seine stete Bereitschaft, Hilfestellung in allen Fragen zu leisten, und für seine freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit zu großem Dank verpflichtet.

Allen Mitarbeitern des Institutes, die mich bei meiner Arbeit unterstützt haben, danke ich für ihre gern gewährte Hilfe.

